

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

Odair José Schmitt

**COBRE EM SOLOS CULTIVADOS COM HORTALIÇAS NO RIO
GRANDE DO SUL E EFEITOS DE CONCENTRAÇÕES EM PLANTAS
DE BETERRABA E REPOLHO**

Santa Maria, RS
2018

Odair José Schmitt

**COBRE EM SOLOS CULTIVADOS COM HORTALIÇAS NO RIO GRANDE DO
SUL E EFEITOS DE CONCENTRAÇÕES EM PLANTAS DE BETERRABA E
REPOLHO**

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS) como requisito parcial para obtenção do título de **Doutor em Agronomia**.

Orientador: Prof^o. Dr. Jerônimo Luiz Andriolo

Santa Maria, RS
2018

Schmitt, Odair José
COBRE EM SOLOS CULTIVADOS COM HORTALIÇAS NO RIO
GRANDE DO SUL E EFEITOS DE CONCENTRAÇÕES EM PLANTAS DE
BETERRABA E REPOLHO / Odair José Schmitt.- 2018.
145 p.; 30 cm

Orientador: Jerônimo Luiz Andriolo
Coorientador: Gustavo Brunetto
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós
Graduação em Agronomia, RS, 2018

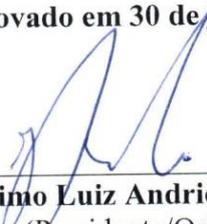
1. Hortaliças 2. Cultivo protegido 3. Metal pesado 4.
Beta vulgaris L. 5. Brassica olearaceae var. capitata.
I. Andriolo, Jerônimo Luiz II. Brunetto, Gustavo III.
Título.

Odair José Schmitt

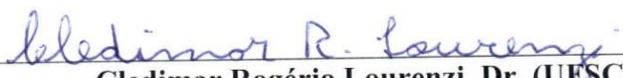
**COBRE EM SOLOS CULTIVADOS COM HORTALIÇAS NO RIO GRANDE DO
SUL E EFEITOS DE CONCENTRAÇÕES EM PLANTAS DE BETERRABA E
REPOLHO**

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS) como requisito parcial para obtenção do título de **Doutor em Agronomia**.

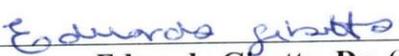
Aprovado em 30 de julho de 2018:



Jerônimo Luiz Andriolo, Dr. (UFSM)
(Presidente/Orientador)



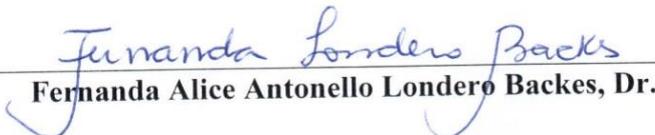
Cledimar Rogério Lourenzi, Dr. (UFSC)



Eduardo Giroto, Dr. (IFRS)



Renan Costa Beber Vieira, Dr. (UFFS)



Fernanda Alice Antonello Londero Backes, Dr. (UFSM)

Santa Maria, RS
2018

DEDICATÓRIA

Dedico ao meu pai Silfredo Schmitt (*in memoriam*), que infelizmente não pode participar fisicamente desta etapa. Essa etapa que começou no dia 1º de julho de 2014, quando soube que havia sido aprovado em 1º lugar na seleção para ingresso no Doutorado em Agronomia e uma hora depois soube também que meu pai estava com sérios problemas de saúde. Dias depois, precisava confirmar a vaga no curso e, eu já decidido a não iniciar naquele momento, e meu pai mesmo já internado no hospital e debilitado me disse: “Odair, eu sei que você quer fazer o Doutorado, então não desista por que eu estou aqui, vou fazer um tratamento e vou ficar bem. Faz tua matrícula”. E assim o fiz.

Hoje eu lhe digo onde estiveres: “Infelizmente o senhor não está entre nós fisicamente, mas eu segui sua orientação e sei que fostes um dos meus guias até aqui e aqui está o resultado e é ao senhor que dedico”.

AGRADECIMENTOS

Esta tese é resultado de vários anos de dedicação, esforço e aprendizado, que agora encerra mais uma etapa da minha formação pessoal e profissional, unindo-se aos anos de educação básica, profissionalizante, superior e mestrado. Durante esta longa jornada, a amizade, a paciência, o apoio e o carinho foram fundamentais, por isso agradeço àquelas pessoas que fazem parte da minha trajetória por suas contribuições.

Agradeço à minha mãe Lúcia por todo amor, apoio e carinho recebido, e ao mesmo tempo peço desculpas pelas semanas que não consegui visita-la. Agradeço especialmente à minha companheira e futura esposa Tatiane, por todo seu amor, companheirismo e por contribuir em todas as etapas ao longo dos quatro anos e por se dispor a curtir suas férias junto comigo, sendo em 2015 coletando amostras de solos; em 2016 realizando análises e determinações dos teores de nutrientes presentes nas plantas; em 2017 e até hoje auxiliando nas análises estatísticas e na revisão da escrita. À minha irmã Cleumara, ao Márcio e a meu afilhado Heitor pelo apoio e torcida. Aos amigos dentre os quais se incluem os colegas de graduação, pós-graduação e especialmente ao compadre André Guareschi por disponibilizar sua moradia para pernoites durante o período das aulas e durante os períodos das determinações em laboratórios da UFSM.

À Universidade Federal de Santa Maria, a qual sou muito grato por toda formação profissional e pessoal que nela busquei e ela me proporcionou. Agradeço a todos os professores que participaram da minha trajetória acadêmica. Agradeço enormemente ao meu orientador Prof. Dr. Jerônimo Luiz Andriolo e também meu segundo pai durante aos quase 12 anos que incluem a iniciação científica, graduação, mestrado e fundamentalmente no doutorado: “Obrigado por toda sua atenção, preocupação e compreensão”. Agradeço imensamente ao Prof. Dr. Gustavo Brunetto por me receber e orientar em uma área distinta da qual estava acostumado e, portanto me tirou da “zona de conforto”.

Agradeço ao Lessandro De Conti, Gerson Drescher, Tadeu L. Tiecher, Camila Tarouco; Francieli Lima Cardoso; Cleiton Casagrande; Márcio Kreutz, Suany Pinheiro, Myriam Galvão Neves, Jullyete Araujo pelos auxílios nas determinações laboratoriais e revisão dos artigos.

À Universidade Federal da Fronteira Sul, pela concessão de horas semanais por meio do Plano de Educação Formal (PLEDUCA) para cursar as disciplinas.

Agradeço a todos os integrantes do grupo de pesquisa em Olericultura, responsáveis pela instalação e condução dos experimentos e pelas pesquisas realizadas. Sem eles, essas seriam impossíveis. **Muito obrigado a todos!**

RESUMO

COBRE EM SOLOS CULTIVADOS COM HORTALIÇAS NO RIO GRANDE DO SUL E EFEITOS DE CONCENTRAÇÕES EM PLANTAS DE BETERRABA E REPOLHO

AUTOR: Odair José Schmitt
ORIENTADOR: Jerônimo Luiz Andriolo

O presente trabalho objetivou diagnosticar os teores de cobre presentes em solos de áreas de cultivo de hortaliças em diferentes regiões do estado do Rio Grande do Sul, inferir sobre o potencial de contaminação ambiental, estimar o potencial de toxidez do Cu sobre parâmetros morfológicos, fisiológicos, bioquímicos e no crescimento de plantas de beterraba e repolho e também o risco a saúde humana associado ao consumo destas hortaliças. Os solos foram amostrados para determinar os teores de Cu solúvel, disponível e total em áreas sob cultivo protegido (CP), cultivo a campo aberto (CA) e em área não antropizada (CN) (Estudo 1). Para a determinação do acúmulo de Cu nos tecidos de plantas de beterraba e repolho e seu potencial de toxidez, dois experimentos foram realizados empregando um sistema sem solo com soluções nutritivas contendo concentrações de Cu de 0,02; 0,27; 0,52; 0,77 e 1,02 mg Cu L⁻¹ (Estudo 2) e de 0,00; 0,52; 1,02; 1,52; 2,02 e 2,52 mg Cu L⁻¹ (Estudo 3). Os teores de Cu na solução do solo, na fração disponível e total em áreas de CA e CP foram maiores em relação a CN. Os teores de Cu presentes nos diferentes tecidos da parte aérea de ambas as espécies e nas raízes tuberosas da beterraba aumentaram com as concentrações de Cu da solução nutritiva, atingindo níveis fitotóxicos. Pode haver riscos a saúde humana a partir do consumo *in natura* de raízes tuberosas de beterraba e de cabeças de repolho.

Palavras-chave: Hortaliças. Cultivo protegido. Metais pesados. *Beta vulgaris* L. *Brassica olearaceae* var. capitata.

ABSTRACT

COPPER IN SOILS CULTIVATED WITH VEGETABLES IN RIO GRANDE DO SUL AND EFFECTS OF CONCENTRATIONS ON BEET AND CABBAGE PLANTS

AUTOR: Odair José Schmitt
ORIENTADOR: Jerônimo Luiz Andriolo

The objective of this work was to make a diagnosis of copper content in soils nowadays used for horticultural crops in different regions of Rio Grande do Sul state, to infer about its potential environmental contamination, its potential toxicity on morphological, physiological, biochemical and growth parameters of beet and cabbage plants, and health risks associated with the consumption of these vegetables. Soils were sampled for determinations of soluble, available and total Cu levels in protected cultivation (CP), open field (CA) and non-anthropogenic (CN) areas (Study1). To determine Cu accumulation in different tissues of beet and cabbage plants and its potential toxicity, two experiments were carried out using a soilless experimental set-up with nutrient solutions containing Cu concentrations of 0,02; 0.27; 0.52; 0.77 and 1.02 mg Cu L⁻¹ (Study 2) and 0.00; 0.52; 1.02; 1.52; 2.02 and 2.52 mg Cu L⁻¹ (Study 3). The Cu contents in soil solution, available and total fractions in areas of CA and CP were higher than in CN. The Cu contents in shoot tissues of both species and in beet taproots increased with Cu concentrations in the nutrient solution, reaching phytotoxic levels. Health risks might face from *in natura* consumption of beet taproots and cabbage.

Key-words: Vegetables. Protected cultivate. Heavy metals. *Beta vulgaris* L. *Brassica olearaceae* var. *capitata*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Cinco passos necessários para o Cu se mover da fração sólida do solo para a planta.	30
ESTUDO 1	
Figura 1 - Localização georeferenciada das propriedades amostradas de acordo com as cinco províncias geomorfológicas/geológicas constantes na Portaria FEPAM n.º 85 /2014.....	55
Figura 2 - Correlação entre teores médios de Cu-EPA e Cu-EDTA avaliadas em amostras de solo referentes aos ambientes: campo nativo ou mata (CN); cultivo a campo aberto (CA) e cultivo protegido (CP) das propriedades 23R1 e 3R1 (n= 6) (a) e das propriedades 11R1 e 9R1 (n= 6) (b). Linha pontilhada representa linha de referência.....	58
ESTUDO 2	
Figura 1 - Dados de temperatura média do ar (a) e a umidade relativa do ar (b) do ambiente de cultivo obtidas por meio de dois registradores eletrônicos (NOVUS, LogBox-RHT-LCD, Brasil), instalados sobre as plantas.	85
Figura 2 - Massa fresca de parte aérea (MFPA) e raízes tuberosas (MFRT) (a), massa seca de folhas (MSFolhas), raízes tuberosas (MSRT), parte aérea (MSPA) (b), massa seca de pecíolos (MSPecíolos) e de raízes (MSRaízes) (c), teor de cobre nos diferentes tecidos (d) e (e) e cobre acumulado nos diferentes tecidos e o total (f) em beterraba, cultivar “Katrina”, cultivada em concentrações de Cu na solução nutritiva. Barras verticais representam erro padrão.	88
Figura 3 - Massa fresca de parte aérea (MFPA) e massa fresca de cabeça (MFCA) (a), teor de cobre nas folhas, cabeça e caule (b), das raízes (c) e cobre acumulado nas folhas, cabeça e caule (d), nas raízes e o total (e), em repolho, cultivar “Fuyutoyo”, cultivado em concentrações de Cu na solução nutritiva.....	91
Figura 4 - Média diária de ingestão de Cu (a) e quociente de risco (b) aos consumidores das raízes tuberosas de beterraba e cabeça de repolho cultivadas sob diferentes concentrações de Cu em solução nutritiva.	92
ESTUDO 3	
Figura 1 - Dados de temperatura média do ar (a) e a umidade relativa do ar (b) do ambiente de cultivo obtidas por meio de dois registradores eletrônicos (NOVUS, LogBox-RHT-LCD, Brasil), instalados sobre as plantas.	115
Figura 2 - Massa fresca de parte aérea (MFPA) e raízes tuberosas (MFRT) (a), massa seca de raízes tuberosas (MSRT), parte aérea (MSPA) e folhas (MSFolhas) (b), massa seca de pecíolos (MSPecíolos) e de raízes (MSRaízes) (c), teores de Cu nos diferentes tecidos (d, e) e Cu total e acumulado nos diferentes órgãos (f) de plantas de beterraba, cultivar “Katrina”, cultivadas em diferentes concentrações de Cu na solução nutritiva. Barras verticais representam erro padrão.	118
Figura 3 - Massa fresca de parte aérea (MFPA) e de cabeça (MFCA) (a), massa seca de parte aérea (MSPA) e folhas (MSFolhas) (b), massa seca de cabeça (MSCabeça), caule (MSCaule) e de raízes (MSRaízes) (c), teores de Cu nos diferentes órgãos (d, e) e Cu total e acumulado nos diferentes órgãos (f) em plantas de repolho, cultivar “Fuyutoyo”, cultivado em diferentes concentrações de Cu na solução nutritiva. Barras verticais representam erro padrão.....	121
Figura 4 - Raízes tuberosas e raízes de plantas de beterraba cultivadas em solução nutritiva com concentrações de 0,52 (a) e 2,52 mg Cu L ⁻¹ (b).....	123

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Participação dos principais estados na produção nacional de hortaliças.....	24
ESTUDO 1	
Tabela 1 - Identificação das propriedades amostradas, municípios, classe de solos e coordenadas geográficas das 25 propriedades amostradas.	54
Tabela 2 - Caracterização dos teores de argila, matéria orgânica, pH em água, CTC pH7,0 e teores de Cu avaliadas em amostras referentes aos ambientes: campo nativo ou mata (CN); cultivo a campo aberto (CA) e cultivo protegido (CP) das quatro propriedades selecionadas para posterior determinação dos teores de Cu por CaCl ₂ , EDTA e EPA.	56
Tabela 3 - Contrastes ortogonais dos teores de Cu presentes no campo nativo ou mata (CN); área de cultivo de hortaliças a campo aberto (CA); área de cultivo de hortaliças sob cultivo protegido (CP) das quatro propriedades após extração por CaCl ₂ (a), EDTA (b) e EPA.	57
Tabela suplementar 1 - Propriedades químicas, físicas e mineralógicas avaliadas em amostras referentes ao ambiente cultivo protegido (C.P) das 25 propriedades amostradas e extrator/metodologia utilizada.	59
Tabela suplementar 2 - Identificação e municípios nos quais foram coletadas amostras e propriedades químicas, físicas e mineralógicas avaliadas em amostras referentes ao ambiente cultivo protegido (C.P) das 25 propriedades amostradas.	60
ESTUDO 2	
Tabela 1 - Parâmetros morfológicos de crescimento, fisiológicos, pigmentos fotossintéticos e parâmetros bioquímicos, teores de Cu acumulado e avaliação de riscos em beterraba, da cultivar “Katrina”, cultivada em diferentes concentrações de Cu na solução nutritiva.	86
Tabela 2 - Parâmetros morfológicos de crescimento, fisiológicos, pigmentos fotossintéticos e parâmetros bioquímicos, teores de Cu acumulado e avaliação de riscos em plantas de repolho, da cultivar “Fuyutoyo”, cultivada em diferentes concentrações de Cu na solução nutritiva. ..	89
ESTUDO 3	
Tabela 1 - Parâmetros morfológicos de crescimento, pigmentos fotossintéticos, teores de Cu acumulado e parâmetros bioquímicos em plantas de beterraba, da cultivar “Katrina”, cultivada em diferentes concentrações de Cu na solução nutritiva.	116
Tabela 2 - Parâmetros morfológicos de crescimento, pigmentos fotossintéticos, teores de Cu acumulado e parâmetros bioquímicos em plantas de repolho, da cultivar “Fuyutoyo”, cultivada em diferentes concentrações de Cu na solução nutritiva.	119
Tabela 3 - Concentrações críticas de toxidez de Cu para plantas de beterraba cultivar “Katrina”, e para plantas de repolho cultivar “Fuyutoyo”, cultivados em diferentes concentrações de Cu na solução nutritiva.....	122

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	20
1.2 HIPÓTESES	21
1.3 OBJETIVOS	22
1.3.1 Objetivo geral.....	22
1.3.2 Objetivos específicos.....	22
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	24
2.1 PRODUÇÃO DE HORTALIÇAS	24
2.2 CONSUMO DE HORTALIÇAS NO BRASIL	25
2.3 A CULTURA DO REPOLHO	26
2.4 A CULTURA DA BETERRABA	26
2.5 COBRE NO SOLO.....	27
2.6 COBRE NA PLANTA	31
ESTUDO 1 - DIAGNÓSTICO DOS TEORES DE COBRE EM SOLOS CULTIVADOS COM HORTALIÇAS EM CULTIVO CONVENCIONAL E PROTEGIDO	36
RESUMO	36
ABSTRACT	36
1 INTRODUÇÃO	37
2 MATERIAL E MÉTODOS	39
2.1 LOCAIS DE AMOSTRAGEM DE SOLO	39
2.2 AMOSTRAGEM DE SOLO	40
2.3 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS	40
2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	41
3 RESULTADOS	41
3.1 ATRIBUTOS RELACIONADOS À DISPONIBILIDADE DE COBRE	41
3.2 COBRE NO SOLO.....	42
4 DISCUSSÃO	43
5 CONCLUSÃO	48
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48
ESTUDO 2 - IMPACTO DE CONCENTRAÇÕES DE COBRE NA SOLUÇÃO NUTRITIVA SOBRE PARÂMETROS MORFOLÓGICOS E FISIOLÓGICOS EM PLANTAS DE BETERRABA E REPOLHO, E O RISCO POTENCIAL DA SUA INGESTÃO À SAÚDE HUMANA	62
RESUMO	62
ABSTRACT	62
1 INTRODUÇÃO	63
2 MATERIAL E MÉTODOS	65
2.1 DESCRIÇÃO DO EXPERIMENTO.....	65
2.2 PARÂMETROS FISIOLÓGICOS E PIGMENTOS FOTOSSINTÉTICOS	67
2.3 ANÁLISES BIOQUÍMICAS	68
2.4 PRODUÇÃO DE MASSA FRESCA E SECA	68
2.5 CONCENTRAÇÃO DE COBRE E COBRE ACUMULADO NO TECIDO	69
2.6 INGESTÃO DIÁRIA DE COBRE (MID _{Cu}) E QUOCIENTE DE RISCO (QR)	69
2.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	70
3 RESULTADOS	70
3.1 PARÂMETROS DE CRESCIMENTO DAS PLANTAS.....	70
3.2 CONCENTRAÇÃO E ACÚMULO DE COBRE NOS ÓRGÃOS	71
3.3 PARÂMETROS FISIOLÓGICOS E PIGMENTOS FOTOSSINTÉTICOS	72
3.4 PARÂMETROS BIOQUÍMICOS.....	72

3.5 ANÁLISE DO RISCO POTENCIAL AOS CONSUMIDORES	73
4 DISCUSSÃO.....	73
5 CONCLUSÃO	78
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	78
ESTUDO 3 - PARÂMETROS MORFOLÓGICOS E FISIOLÓGICOS EM BETERRABA E REPOLHO CULTIVADAS EM SOLUÇÃO CONTENDO COBRE .	94
RESUMO	94
ABSTRACT.....	94
1 INTRODUÇÃO.....	95
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	96
2.1 DESCRIÇÃO DO EXPERIMENTO	96
2.2 PIGMENTOS FOTOSSINTÉTICOS	98
2.3 ANÁLISES BIOQUÍMICAS.....	98
2.4 PRODUÇÃO DE MASSA FRESCA E SECA E CONCENTRAÇÕES CRÍTICAS DE TOXIDEZ	99
2.5 CONCENTRAÇÕES E ACÚMULO DE COBRE EM ÓRGÃOS	99
2.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA	100
3 RESULTADOS.....	100
3.1 PARÂMETROS DE CRESCIMENTO E CONCENTRAÇÕES CRÍTICAS DE TOXIDEZ	100
3.2 CONCENTRAÇÃO E ACÚMULO DE COBRE EM ÓRGÃOS	101
3.3 PIGMENTOS FOTOSSINTÉTICOS E PARÂMETROS BIOQUÍMICOS	102
4 DISCUSSÃO.....	103
5 CONCLUSÃO	108
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	108
3 DISCUSSÃO GERAL.....	124
4 CONCLUSÕES	132
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	134
ANEXOS.....	142
ANEXO A - ASPECTOS GERAIS DAS 25 PROPRIEDADES AMOSTRADAS.....	142
ANEXO C – RESULTADOS OBTIDOS A PARTIR DAS EQUAÇÕES AJUSTADAS PARA AS DUAS CONCENTRAÇÕES QUE FORAM REPETIDAS NOS EXPERIMENTOS APRESENTADOS NOS ARTIGOS 2 E 3 (0,52 E 1,02 mg L ⁻¹).	144

1 INTRODUÇÃO GERAL

O cenário de aumento da população mundial, que atualmente está em 7,6 bilhões de pessoas e deve chegar aos 8,6 bilhões em 2030. A população brasileira que ultrapassou os 209 milhões de pessoas, com expectativa de atingir o pico populacional em 2047 com 232,8 milhões de habitantes (ONU, 2017). Esse cenário dará um impulso ainda maior no contexto já existente quanto à necessidade da produção escalar e massiva de alimentos e também, a intensificação do uso dos recursos naturais do planeta, da geração de resíduos e possíveis aumentos nas contaminações da água, do ar e do solo.

O tema tem trazido a necessidade da criação de legislações e parâmetros para o monitoramento e avaliação dos teores de metais pesados adicionados aos diferentes ambientes. Para o cobre (Cu), em áreas exploradas pela agricultura, a legislação ambiental brasileira estipulou valores referenciais baseados na concentração total de Cu no solo, sendo de 60 mg Cu kg⁻¹ de solo para a prevenção (VP) e de 200 mg kg⁻¹ para investigação (VI) (CONAMA 2009). No entanto, o teor total de Cu presente em um solo, geralmente não apresenta uma relação direta com o Cu absorvido e acumulado pelas plantas (MIOTTO et al., 2014).

Com a demanda atual e crescente por alimentos e a busca de produção em escala, o uso de insumos também é intensificado, sejam eles de origem orgânica ou inorgânica, acarretando uma maior introdução de elementos considerados nutrientes nos ecossistemas agrícolas. Esses poderão tornar-se problemáticos e passar a serem considerados contaminantes, quando os teores acumulados tornarem-se excessivos no solo e nos mananciais hídricos. Em solos agrícolas, as adições de metais pesados como o Cu tendem a aumentar devido à intensificação da destinação de lodo de esgoto, emprego de fertilizantes orgânicos e minerais, assim como agrotóxicos. Solos quando apresentam altos teores de Cu sofrem diversos efeitos prejudiciais, podendo resultar em prejuízos ao crescimento e a produtividade de culturas agrícolas, como já observado em áreas de videira (BRUNETTO et al. 2018; COMIN et al., 2018). Além disso podem potencializar danos à saúde de seres humanos pela introdução deste metal pesado, de efeito acumulativo, na cadeia trófica, a partir da sua absorção e acúmulo em partes comestíveis das plantas.

Na olericultura, aplicações de adubação química e orgânica são comuns (ANDRIOLO, 2017), assim como o emprego de fungicidas cúpricos (SILVA et al., 2016). O uso frequente e sucessivo de insumos que contém Cu pode ocasionar o seu acúmulo no solo, pois o mesmo, sob condições normais, é demandado e absorvido em quantidade reduzida pelas plantas. Esse

acúmulo pode ser favorecido em ambientes como o cultivo protegido, que restrinjam a ação de mecanismos de dissipação (lixiviação, erosão, etc.). Diversos estudos demonstram acúmulo de Cu em solos de áreas de cultivo protegido nos EUA (DIETRICH et al., 2001) e, principalmente na China (ZHANG et al., 2011; YANG et al., 2014; HU et al., 2017; WHANG et al., 2017).

Pesquisas para determinação de concentrações de metais pesados potencialmente tóxicos presentes no solo vem sendo realizadas e alguns problemas decorrentes dos efeitos tóxicos do Cu sobre as plantas têm sido reportados. De maneira geral cita-se: alterações nos parâmetros morfológicos, fisiológicos e bioquímicos, os quais geralmente estão acompanhados de reduções do crescimento e da produção e/ou acúmulo excessivo do elemento nas partes comestíveis, usadas na alimentação humana. No entanto, resultados de pesquisas sobre as concentrações críticas e teores de Cu considerados tóxicos para hortaliças nos diferentes solos são escassos e difíceis de serem obtidos a partir de experimentos com Cu realizados no solo. Isso está relacionado aos diversos fatores que influenciam a dinâmica do Cu no solo, dificultando a determinação de relações diretas entre a concentração total desse elemento no solo e sua absorção por plantas. Uma dificuldade adicional decorre da grande variedade de espécies de hortaliças cultivadas, com diferentes hábitos de crescimento e desenvolvimento.

Pesquisas para o estabelecimento de teores de Cu nos solos e das concentrações críticas e tóxicas às plantas são fundamentais, pois além dos teores de Cu elevados serem agentes contaminantes dos recursos naturais, podem afetar a qualidade e segurança alimentar. Dessa forma, são necessários o conhecimento e o monitoramento dos teores presentes no solo e nas hortaliças cultivadas, pois o consumo dessas plantas é uma das formas como o metal é introduzido na cadeia alimentar.

O presente trabalho trás determinações e avaliações dos teores de cobre presentes em solos de áreas de cultivo de hortaliças em diferentes regiões do estado do Rio Grande do Sul, inferir sobre o potencial de contaminação ambiental, estima o potencial de toxidez do Cu sobre parâmetros morfológicos, fisiológicos, bioquímicos e crescimento de plantas de beterraba e repolho e também risco a saúde humana associado ao consumo destas hortaliças.

1.2 HIPÓTESES

i) Os teores de cobre presentes nos solos de áreas de cultivo convencional e protegido de hortaliças estão sendo incrementados pelos cultivos sucessivos e estão acima dos

respectivos Valores de Referência de Qualidade dos solos (VRQs) para as cinco regiões geomorfológicas do Estado do RS, indicados pela portaria N° 85 emitida pela FEPAM e publicada no DOE de 05/09/2014;

ii) aumentos das concentrações de Cu na solução nutritiva afetam parâmetros morfológicos e bioquímicos das plantas de beterraba e repolho;

iii) elevadas concentrações de cobre na solução nutritiva reduzem o crescimento e a produtividade das hortaliças, e aumentam as concentrações e acúmulos de Cu nos órgãos das plantas, que poderão trazer riscos a saúde dos consumidores.

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 Objetivo geral

O objetivo geral é determinar os teores de cobre em solos cultivados com hortaliças e inseridos nas cinco regiões geomorfológicas do RS, constantes na Portaria N° 85 (FEPAM, 2014), e determinar os efeitos do Cu sobre parâmetros morfológicos e bioquímicos das plantas de repolho e o Cu acumulado nos diferentes órgãos das plantas de beterraba e repolho e desta forma inferir sobre o risco potencial a saúde humana associado ao consumo da raiz tuberosa da beterraba e a cabeça do repolho.

1.3.2 Objetivos específicos

i) diagnosticar os teores e a labilidade do Cu presente em solos de áreas cultivadas com hortaliças a campo aberto e em ambientes protegidos;

ii) avaliar o efeito de concentrações de Cu na solução nutritiva sobre parâmetros morfológicos e fisiológicos em plantas de beterraba e repolho, e o risco potencial da sua ingestão à saúde humana.

iii) avaliar parâmetros morfológicos e bioquímicos em plantas de beterraba e repolho cultivadas em solução contendo Cu.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 PRODUÇÃO DE HORTALIÇAS

A produção brasileira de hortaliças é extremamente relevante nas esferas econômica, social, nutricional e para a saúde. Na economia, a produção de hortaliças está entre os segmentos mais destacados no agronegócio brasileiro, representa cerca de 6% do PIB agropecuário nacional, com área estimada de cerca de 800 mil hectares e volume de produção em torno de 23 milhões de toneladas, contemplando mais de uma centena de espécies cultivadas em todas as regiões do país (CNA, 2016; ANUÁRIO, 2017). O cultivo comercial de hortaliças possibilita a geração de grande número de empregos, principalmente no setor primário, devido à elevada necessidade de mão-de-obra desde a sementeira até a sua comercialização (SILVA; COSTA, 2010). É estimada a geração de 3 a 6 empregos diretos e um número semelhante de empregos indiretos, para cada hectare de hortaliças cultivado (SEBRAE NACIONAL, 2015).

A região Sudeste do Brasil é a maior produtora e, devido a maior concentração da população, é também a maior consumidora de hortaliças (ANUÁRIO, 2017). Os principais estados produtores de hortaliças a nível nacional são São Paulo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, Paraná e Rio Grande do Sul (Tabela 1). Espírito Santo e Santa Catarina representam cerca de 5% do total, cada um. Com índices próximos de 4% estão Bahia, Ceará, Pernambuco e Goiás, enquanto que o Distrito Federal contribui com 2% da produção nacional (ANUÁRIO, 2017).

Tabela 1 - Participação dos principais estados na produção nacional de hortaliças.

Estados	Participação (%)
São Paulo	20,7
Minas Gerais	13,9
Rio de Janeiro	13,2
Paraná	8,5
Rio Grande do Sul	6,0

Elaborado pelo autor. Fonte: Anuário 2017.

No Brasil, a atividade de cultivo de hortaliças tem como uma de suas características, ser realizada predominantemente em pequenas propriedades, geralmente localizadas nas proximidades dos grandes centros urbanos e consumidores, e com cultivo predominante no solo (FILGUEIRA, 2012; TELLES, 2016; ANDRIOLO, 2017). A produção de hortaliças no país sofre com problemas climáticos como excesso de chuvas, frio e geada na região Sul e calor e estiagem no Nordeste. Nos estados do Sul, no ano de 2016, as perdas devido às baixas temperaturas e geadas chegaram a 30% nas hortaliças cultivadas em campo aberto. Nessas regiões, esses eventos justificam e impulsionam a adoção de sistemas de produção em cultivo protegido (CNA, 2016; ANDRIOLO, 2017).

2.2 CONSUMO DE HORTALIÇAS NO BRASIL

O consumo per capita de hortaliças no Brasil é de cerca de 50 g dia⁻¹ (IBGE, 2011; CANELLA et al., 2018). Apesar do consumo per capita de hortaliças ainda ser inferior ao recomendado pela Organização Mundial da Saúde, que recomenda consumo mínimo per capita de 400 gramas de frutas e hortaliças por dia (WHO, 2003), esse vem aumentando ao longo dos últimos anos. Tal avanço é reflexo das pesquisas que demonstram seus benefícios à saúde, associada a uma maior conscientização da população em busca de uma dieta alimentar mais rica, balanceada e saudável (TELLES, 2016). As hortaliças, por serem ótimas fontes de sais minerais, vitaminas e fibras, substâncias essenciais ao organismo humano, devem ser ingeridas diariamente, pois auxiliam na digestão e favorecem o funcionamento de diversos órgãos (FILGUEIRA, 2012; CANNELA et al., 2018). Por também apresentarem baixo teor calórico, o hábito de consumir esses alimentos auxilia na prevenção da obesidade e dos diversos riscos a ela associados (LANA; TAVARES, 2010). Diversas propriedades nutracêuticas das hortaliças têm sido confirmadas em estudos, dentre elas destacam-se o sulforafane em brócolis, quercetina na cebola, licopeno no tomate e flavonoides no morango (MACHADO, 2008).

No entanto, os efeitos benéficos a elas atribuídas somente serão expressos quando essas estiverem livres de agentes tóxicos aos consumidores (SLAVIN; LLOYD, 2012). Diante do cenário de aumento do consumo de hortaliças e suas motivações, os produtores de hortaliças são desafiados a aumentar sua produtividade (quantidade), mas também são responsáveis por ofertar produtos que promovam os benefícios nelas buscados (qualidade), e tudo isso deve estar aliado à sustentabilidade de sua produção e assim alavancar o crescimento da olericultura brasileira (MONTEZANO; PEIL, 2006; ANDRIOLO, 2017).

O conhecimento e monitoramento das características do solo das áreas onde são cultivadas hortaliças deve fazer parte desse cenário que visa a sustentabilidade da olericultura. Após longos períodos de cultivo, o solo pode apresentar teores elevados de nutrientes/elementos que, dependendo de sua concentração, podem atingir níveis tóxicos e contaminantes às plantas e ao ambiente, como é o caso dos metais pesados, entre eles, o cobre (SILVA et al., 2016). O excesso de Cu nos solos cultivados com hortaliças, pode resultar em elevadas concentrações de Cu em tecidos utilizados para alimentação humana, predispondo seus consumidores à ingestão excessiva deste metal, uma vez que o consumo de hortaliças é considerado a principal fonte de exposição humana a metais pesados, podendo ser responsável por 90% da ingestão total (MARTORELL et al., 2011; REHMAN et al., 2017).

2.3 A CULTURA DO REPOLHO

O repolho (*Brassica oleracea* var. *capitata* L.) é uma hortaliça folhosa, originária de regiões temperadas Costa Ocidental Européia; Costa do Mediterrâneo e Ásia Menor (MOREIRA et al., 2011). Seu hábito de crescimento é herbáceo, no qual parte das folhas cerosas e arredondadas, formando uma cabeça compacta, sendo a parte de maior interesse para o consumo humano (FILGUEIRA, 2012).

No Brasil, o repolho é cultivado em cerca de 38 mil propriedades, resultando em produção de cerca de 490 mil toneladas. A região Sudeste é responsável por aproximadamente 60% da produção nacional desta hortaliça, seguida da região Sul com 35% nos quais, o Rio Grande do Sul contribui com 12% da produção (IBGE, 2018).

O repolho é a principal espécie comercial da família Brassicaceae e uma das principais hortaliças cultivadas no Brasil (ANUÁRIO, 2017). Isso se deve ao seu elevado valor nutricional (CORREA et al., 2013) e à adaptação dos híbridos às diversas condições climáticas (FILGUEIRA, 2012), reflexo do melhoramento genético que contribui para a obtenção cultivares adaptadas a temperaturas mais elevadas, assim ampliando consequentemente, os locais e períodos de plantio e de colheita (MOREIRA et al., 2011).

2.4 A CULTURA DA BETERRABA

A beterraba (*Beta vulgaris* L.), pertencente à família Quenopodiaceae, é originária de regiões temperadas da Europa e Norte Africanas. A planta desenvolve uma típica parte tuberosa (raiz tuberosa), a partir do intumescimento do hipocótilo, apresentando um formato

globular, desenvolvendo-se quase à superfície do solo (FILGUEIRA, 2012). O sistema radicular é do tipo pivotante e a raiz principal atinge profundidade de 60 cm, com poucas ramificações laterais.

A beterraba, no Brasil, é cultivada em aproximadamente 25 mil propriedades, resultando em produção de cerca de 135 mil toneladas. A região Sudeste é responsável por metade da produção nacional desta hortaliça, seguida da região Sul com cerca de 35%. O estado do Rio Grande do Sul contribui com cerca de 14%, com 18,7 mil toneladas, sendo o terceiro maior produtor (IBGE, 2018).

O cultivo de beterraba no Brasil ocorre para atender o consumo preferencial por meio da raiz tuberosa, consumida na forma crua ralada ou cozida e também as folhas como um consumo secundário (FILGUEIRA, 2012). Marques et al. (2010) relataram um aumento crescente da procura e emprego da hortaliça por parte de indústrias de conservas e alimentos infantis para consumo in natura, devido ser rica em ferro e possuir bom teor de proteínas. Além disso, é indicada no combate a anemia, contribuindo na formação dos glóbulos vermelhos do sangue. É um alimento rico em potássio, cloro, sódio e contém zinco, elemento necessário aos tecidos cerebrais (FILGUEIRA, 2012).

A cultura da beterraba pode ser implantada por sementeira direta, por transplântio de mudas em torrão (produzidas em bandejas) ou pelo transplântio de mudas de raízes nuas. Essas diferentes formas podendo resultar em desuniformidade nos estandes devido a germinação irregular ou devido ao estresse causado pelo transplante. O ciclo de cultivo pode variar de 60 a 100 dias, no verão e inverno, respectivamente, sendo o ciclo de cultivo influenciado pela cultivar e forma de implantação do cultivo (FILGUEIRA, 2012).

2.5 COBRE NO SOLO

O cobre apesar de estar englobado no grupo de “metais pesados” por possuir densidade igual a $8,9 \text{ g cm}^{-3}$, ou seja, superior a 5 g cm^{-3} (WUANA; OKIEIMEN, 2011), é essencial para as plantas. Assim como para os metais pesados de uma forma geral, nenhuma degradação química ou microbiana desse elemento pode ser esperada, por isso concentrações no solo persistem por muitos anos e tendem a aumentar (GUO; ZHOU; MA, 2006). Teores de Cu naturalmente presentes em solos são variáveis em função dos fatores e processos pedogenéticos e principalmente, relacionados à composição química do material de origem (ARENA; HARTMANN; BAGGIO, 2014; ALTHAUS et al., 2018), sendo os maiores teores observados geralmente em solos originados a partir de rochas ígneas básicas e sedimentares e

em minerais secundários na forma de silicatos, carbonatos e óxidos em teores de 10 a 100 mg kg⁻¹ (DECHEN; NACHTIGALL, 2007; ABREU et al., 2007). Nos solos, de um modo geral, são encontrados teores entre 2 e 100 mg Cu kg⁻¹ de solo (CAMARGO; ALLEONI; CASAGRANDE, 2001).

As fontes químicas mais empregadas para fornecimento de Cu para as plantas cultivadas no Brasil são as seguintes, com os respectivos teores (%): “fritas” (0,8-3,5); óxido (75-89); oxicloreto de cobre (50-59); sulfato (25); quelatos (5-13) (SOUZA, 2011). No entanto, a adição de resíduos orgânicos em áreas agrícolas tornou-se frequente e uma alternativa à destinação de resíduos, tais como dejetos de animais e lodos de esgoto urbano, assumindo grande importância como fonte de nutrientes, tais como o Cu. Fukayama (2008) avaliou a cama de frango em duas possíveis alternativas de aproveitamento (biofertilizante e biogás) e encontrou teores de Cu que variaram de 525 a 631 mg kg⁻¹. De acordo com dados apresentados por Viana et al. (2006), os teores de Cu na cama e fezes de frangos estão relacionados com a presença destes elementos no farelo de milho (3 mg kg⁻¹) e farelo de soja (22 mg kg⁻¹), importantes componentes da ração fornecida aos animais. Segundo França et al. (2009), são aplicadas como fertilizante orgânico cerca 4,4 toneladas de cama de frango por hectare ao ano. Esta quantidade poderá adicionar ao solo cerca de 0,15 kg de Cu por hectare ao ano (VIEIRA, 2011). No entanto, os teores de Cu no solo encontrados por Vieira (2011) ficaram abaixo do valor de prevenção (VP= 60 mg kg⁻¹) estabelecido pelo CONAMA (2009) e foram considerados como não prejudiciais à qualidade do solo.

Nas áreas cultivadas com espécies frutíferas e hortaliças, o Cu pode estar sendo adicionado ao solo, possivelmente, pelo uso combinado e recorrente de agrotóxicos cúpricos, fertilizantes foliares, adubação orgânica (dejetos de suínos e de aves) e fertilizantes químicos que contenham o Cu em sua formulação (FERNÁNDEZ-CALVIÑO et al., 2009; SILVA et al., 2016). Neste sentido, Silva (2010) avaliou áreas cultivadas com mangueira por diferentes períodos de cultivo no vale do São Francisco - Petrolina (PE) e observou acúmulos de Cu no solo em áreas com maior tempo de cultivo. Na mesma região, Costa (2009) trabalhou com videira de várias idades e seus resultados corroboraram com os de Casali et al. (2008) e Bruneto et al. (2018), que encontraram teores de Cu elevados em solos cultivados por vários anos com videira nas regiões da Serra e da Campanha Gaúcha, respectivamente. Teores de Cu em áreas cultivadas com hortaliças apresentaram teores significativamente superiores às áreas de florestas em estudo realizado em Pernambuco, sendo atribuídos principalmente a uso de agrotóxicos cúpricos (SILVA et al., 2016).

No solo, o Cu ocorre nas formas cuprosa (Cu^+) e cúprica (Cu^{2+} = mais importante) e, em alguns minerais, na forma metálica. O elemento é caracterizado pela baixa solubilidade, estando os teores de Cu associados a várias frações: na solução do solo, como os íons metálicos livres e complexos de metal solúvel; adsorvido a constituintes do solo inorgânicos em locais de troca iônica; ligado à matéria orgânica do solo; precipitados como óxidos, hidróxidos, carbonatos; e incorporado na estrutura dos minerais (TESSIER et al., 1979; BRUNETTO et al., 2014).

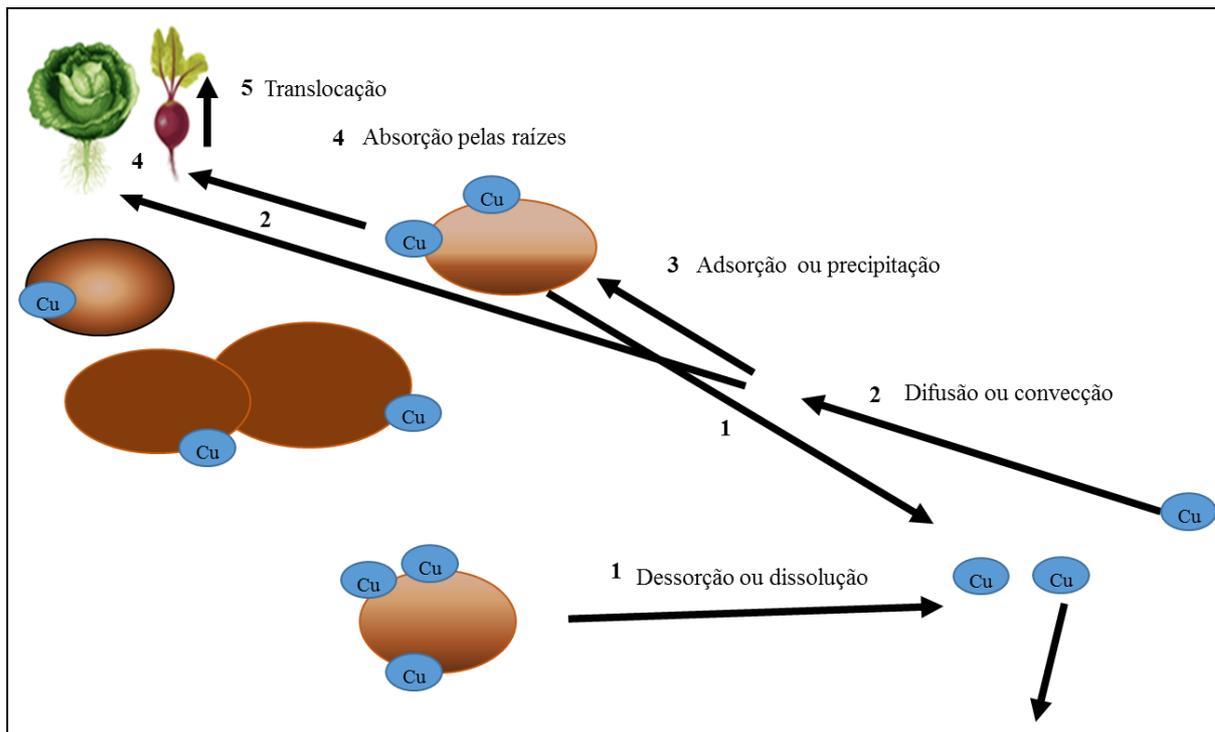
Os processos envolvidos na transferência do Cu associado à matriz sólida de um solo para a parte aérea das plantas, segundo McBride (1994), podem ser resumidos em cinco passos, os quais estão apresentados na Figura 1 e descritos na sequência. O primeiro passo pode ser chamado de dessorção ou dissolução, sendo definido como a liberação do Cu de uma interface entre uma superfície sólida e uma solução. Esta etapa pode ser resumida como a liberação do Cu adsorvido a fração sólida (mineral ou orgânica) para a solução do solo. Os nutrientes, uma vez na solução do solo, podem ser transferidos para fora do sistema solo-planta por meio de processos de perda, tais como lixiviação, erosão, etc. Em solução, estes podem passar a se movimentar no sistema solo num segundo passo, chamado de difusão ou convecção. Para os elementos traço, como o Cu, este movimento geralmente é considerado muito lento, devido suas baixas concentrações e demanda das plantas, o que não origina grandes gradientes de concentração. Sendo, desta forma, considerado um importante fator responsável pela limitação na absorção de grandes teores de Cu, mesmo em plantas bioacumuladoras.

Durante sua difusão, os íons podem aproximar-se da rizosfera ou novamente ser retirado da solução, originando um terceiro passo (Figura 1), a adsorção ou precipitação em um novo sítio da matriz sólida. Caso seja adsorvido, este poderá ser novamente dessorvido para a solução em outro momento.

Alterações da disponibilidade de Cu nos solos são resultantes de diversas reações químicas, sendo a adsorção responsável por controlar as concentrações de íons de Cu livres e/ou de seus complexos na solução do solo, influenciando também a absorção radicular desse pelas plantas (GIROTTO et al., 2010; BRUNETTO et al., 2018). A manutenção dos íons na interface partículas sólidas-solução do solo está relacionada com as forças físicas das reações envolvidas na adsorção, sendo classificada em não específica e reversível, quando resulta do balanço de cargas elétricas junto à superfície das partículas, sendo que cátions de maior valência e menor raio de hidratação apresentam maior afinidade a fração coloidal (MEURER; RHEINHEIMER; BISSANI, 2006). No entanto, quando a reação de adsorção é resultante de

ligações eletrostáticas ou covalentes com os grupos OH e/ou O^- da fração coloidal, a adsorção é denominada de específica, sendo, portanto altamente estável. Nesse caso, complexos de esfera interna são originados devido ao Cu ficar fortemente ligado em sítios de carga negativa presentes nas estruturas cristalinas dos óxidos e hidróxidos de Fe, Al e de argilominerais (SILVEIRA; ALLEONI, 2003; SPARKS, 2005; SPOSITO, 2008).

Figura 1 - Cinco passos necessários para o Cu se mover da fração sólida do solo para a planta.



Elaborado pelo autor: Adaptado de McBride (1994).

A biodisponibilidade de Cu na solução do solo é influenciada por diversos fatores, dentre eles dois são considerados os principais: o pH e o teor de matéria orgânica (MO) (McBRIDE, 1994; RODRIGUEZ-RUBIO et al., 2003; MEURER; RHEINHEIMER; BISSANI, 2006). Valores de pH próximos a neutralidade resultam em redução na disponibilidade de Cu na solução, sendo essa maior na faixa de 5,0 a 6,5, desencadeando uma alteração nos teores de Cu-trocável, devido a adsorção de Cu junto à matéria orgânica ou óxidos. As alterações do pH influenciam diretamente a ocorrência de reações nos grupos funcionais da superfície da fração sólida, tais como: óxidos de alumínio (Al]-OH); óxidos de ferro (Fe]- OH), carboxil (-COOH), hidroxil (-OH), coordenando a geração de cargas negativas ou positivas através da adsorção ou desorção de íons hidroxil (OH^-) ou prótons (íons H^+) influenciando o grau de ionização e a especiação dos elementos que serão

adsorvidos (MEURER; RHEINHEIMER; BISSANI, 2006). Em solos com pH em condições neutras e alcalinas, a formação de complexos e precipitados são favorecidas tornando o metal menos disponível (YRUELA, 2009; JORIS et al., 2012; COMIN et al., 2018).

A matéria orgânica do solo (MOS) é composta de materiais de origem orgânica, como resíduos vegetais e animais, que estão passando por diversos estágios de decomposição, seja por meio da degradação microbiológica ou química, sendo classificados em substâncias húmicas e substâncias não húmicas (BAYER et al., 2002). A MOS é uma importante condicionadora do solo, pois contribui para geração e manutenção de grupos funcionais com cargas negativas (BORTOLUZZI et al., 2006), sendo uma excelente fonte de nutrientes para as plantas, influenciando a formação de complexos estáveis com cátions metálicos, regulando portanto a sua disponibilidade por meio da solubilização ou imobilização de Cu (KHAN; JONES, 2008; SHAHEEN; TSADILAS; RINKLEBE, 2013). No entanto, estas reações estão intimamente relacionadas como o pH. Sob condições ácidas, a formação de complexos ou quelatos solúveis podem aumentar o movimento e a disponibilidade do metal no solo, assim como, rápidos aumentos nas disponibilidades de Cu podem ocorrer devido à decomposição da MO (GIROTTO et al., 2010; BRUNETTO et al., 2018).

A capacidade de troca de cátions (CTC) do solo representa a disponibilidade de sítios de adsorção junto a fração sólida (colóides), portanto, quanto maior seu valor, maior capacidade de adsorção de Cu em comparação aos solos de baixa CTC. De 30 a 65% da CTC do solo é resultante das cargas elétricas da MO especialmente os grupos funcionais com cargas negativas (COSTA et al., 2006, BORTOLUZZI et al., 2006).

A presença de óxidos de Fe e Al também alteram a disponibilidade de Cu para as plantas, pois quanto maior o teor de óxidos no solo e aliado a presença de MO, maior será a capacidade de adsorção de Cu pelo solo, e menor será o Cu na solução (BRADL, 2004; COUTO et al., 2015). O Cu adsorvido é responsável pela reposição do Cu na solução durante e após a absorção pelas plantas. Outros fatores que influenciam a disponibilidade de cobre no solo são a textura e área superficial específica. Geralmente, solos arenosos e com baixos teores de MO apresentam altas taxas de perdas de nutrientes por lixiviação e inclusive, de Cu, podendo, neste caso, resultar em deficiência para as plantas cultivadas (McBRIDE, 1994).

2.6 COBRE NA PLANTA

No momento em que os íons da solução do solo entram em contato com o sistema radicular, poderá ocorrer a quarta etapa apresentada na Figura 1, chamada de absorção

radicular. Assim como as demais etapas, essa tem a influência crucial dos fatores inerentes ao solo devido suas características que afetam a biodisponibilidade do elemento, conforme já comentado. Porém, a própria planta pode alterar condições rizosféricas para aumentar ou restringir a absorção de Cu. A disponibilidade de Cu pode ser alterada por compostos orgânicos exsudados pelas raízes reduzindo a absorção deste elemento pelas plantas, através da alteração do pH da solução na rizosfera (BRAVIN et al., 2012) ou da complexação do Cu com compostos orgânicos (BRUNETTO et al., 2016). Alguns exsudatos encontrados nas raízes de plantas de beterraba (LOPEZ-MILLAN et al., 2000) e repolho (DECHASSA; SCHENCK, 2004) como os ácidos orgânicos citrato, malato e succinato, podem ligar-se ao Cu devido sua alta afinidade pelo elemento (DE CONTI et al., 2016). Essa ligação Cu-ácidos orgânicos, aliada ao processo de alcalinização da rizosfera, modificam a solubilidade do Cu por meio da alteração da distribuição das suas espécies químicas, reduzindo o potencial tóxico do metal para as culturas (PEREZ-ESTEBAN et al., 2014).

As raízes desempenham papel importante na prevenção da ocorrência de teores excessivos de Cu na parte aérea, especialmente nas folhas, em função do acúmulo de parte do Cu nas raízes, o que diminui a sua translocação para a parte aérea (TIECHER et al., 2018). Porém, em solos e condições onde os teores biodisponíveis são baixos, há relatos de que as micorrizas arbusculares sejam responsáveis por melhorar a aquisição de Cu pelas plantas devido ao aumento da difusão (HINSINGER; COURCHESNE, 2007). O nutriente metálico Cu é absorvido principalmente na forma do cátion Cu^{2+} , chegando a raiz por meio do fluxo de massa, mas o Cu nas formas de quelato, possivelmente, tem importância na liberação do nutriente para a superfície da raiz por meio da difusão (curtas distâncias) (MENGEL; KIRKBY, 2001; MARSCHNER, 2012). Dentre as hortaliças, podem existir diferenças genotípicas quanto à absorção e translocação de Cu, variando dentre espécies distintas (NASER et al., 2011), assim como entre cultivares de uma mesma hortaliça (SHIYAB, 2018).

A quinta e última etapa apresentada na Figura 1 é a translocação do Cu na planta, que é um processo independente do solo. Devido à sua carga, os íons de Cu não podem mover-se livremente através das membranas celulares, que são estruturas lipofílicas. Devido a isso, o transporte de íons nas células deve ser mediado por proteínas da membrana com funções de transporte, genericamente conhecido como transportadores. A ligação transportador-íons é específica, sendo para o Cu descritas seis famílias de proteínas transportadoras (COPT 1-6) (YRUELA, 2009). Esses transportadores são caracterizados por determinados parâmetros cinéticos, que interferem na absorção de Cu, como a capacidade de transporte (V_{max}) e afinidade para íons (K_m). A V_{max} mede a velocidade máxima de transporte de íons através das

membranas celulares. A K_m indica a afinidade para o transportador de um íon específico e representa a concentração de íons na solução externa em que a taxa de transporte é igual a $V_{max}/2$. Um valor de K_m baixo, de alta afinidade, indica que níveis elevados de íons são transportados para as células, mesmo sob a baixa concentração de íons externa (MARSCHNER, 2012; PRINTZ et al., 2016).

Em espécies vegetais, quando cultivadas em solos contaminados com metais pesados, de uma forma geral, a absorção desses elementos também ocorrerá em níveis elevados, porém, é comum a planta impor limitações para a translocação das raízes para a parte aérea das plantas. Segundo Yruela (2009), a absorção e transporte de Cu pode ser pelas vias apoplástica e simplástica. Pela via apoplástica, grande fração do Cu absorvido pelas raízes pode permanecer compartimentalizado nos compostos orgânicos da parede celular e no apoplasto na forma de ligações aos grupos sulfídricos (R-SH -) e carboxílicos (R-COO-). Na via simplástica, o acúmulo de Cu é possível por meio da formação de quelatos com compostos ligantes de alta afinidade, como ácidos orgânicos, aminoácidos e peptídeos (HALL, 2002), que complexam o Cu e possibilitam o acúmulo nas células das raízes, podendo ainda ser compartimentalizado no vacúolo (BRUNNER et al., 2008; CORGUINHA, 2011).

A essencialidade do mineral Cu no crescimento das plantas é justificada por sua participação em inúmeros processos fisiológicos, tais como: na síntese de proteínas, do metabolismo de carboidratos e da fixação simbiótica de N_2 (MARSCHNER, 2012; KIRKBY; RÖMHELD, 2007). A absorção pelas plantas ocorre sob duas formas, íon Cu^{2+} ou cobre quelato. Sua mobilidade no interior das plantas é pequena, podendo ser translocado das folhas velhas para as folhas novas. Geralmente a concentração nas plantas é pequena, variando entre 2 e 20 $mg\ kg^{-1}$ na matéria seca (MS). Níveis entre 20 e 100 $mg\ kg^{-1}$ de MS da parte aérea são considerados tóxicos para algumas espécies (citros, leguminosas, entre outras) (KABATA-PENDIAS ;PENDIAS, 2010). O menor desenvolvimento radicular, a redução da absorção de água e de nutrientes são manifestações comuns e associadas da toxidez em plantas (KOPSELL ;KOPSELL, 2007).

O excesso de Cu nos tecidos da parte aérea das plantas pode desencadear a ocorrência de danos oxidativos e degeneração de componentes celulares, os quais são resultantes de desequilíbrios entre a reação antioxidante e o aumento na geração de espécies reativas de oxigênio (EROs) nas plantas (GIROTTO et al., 2013). Esses efeitos negativos do excesso do metal são variáveis de acordo com a concentração no órgão da planta e os mecanismos de tolerância da espécie vegetal, podendo alterar parâmetros morfológicos, bioquímicos e

fisiológicos (MATEOS-NARANJO et al., 2013). Em plantas de beterraba expostas a elevadas concentrações de Cu no meio de crescimento do sistema radicular foram observadas diminuições no crescimento de raízes e folhas e aumentos dos níveis de peroxidação lipídica (MORALES; RODRÍGUEZ-MONROY; SEPÚLVEDA-JIMÉNEZ , 2012). Da mesma forma, plantas de repolho expostas a concentrações de Cu consideradas fitotóxicas podem apresentar redução no conteúdo de pigmentos fotossintéticos e na atividade fotossintética (ALI et al., 2015).

ESTUDO 1 - DIAGNÓSTICO DOS TEORES DE COBRE EM SOLOS CULTIVADOS COM HORTALIÇAS EM CULTIVO CONVENCIONAL E PROTEGIDO

RESUMO

A presença de cobre (Cu) em altos teores nos solos cultivados com hortaliças é um problema agrícola, social e ambiental. Além de causar toxidez às plantas, reduzindo seu crescimento e a produção, pode ser absorvido e acumulado nos órgãos comestíveis das plantas, potencializando o risco de sua introdução excessiva na dieta humana e, em condições extremas, contaminar o solo e mananciais hídricos. O trabalho objetivou diagnosticar os teores e a labilidade do Cu presente em solos de áreas cultivadas com hortaliças em diferentes ambientes de cultivo e em solo não antropizado. Vinte e cinco propriedades do estado do Rio Grande do Sul, Brasil, foram amostradas nas áreas sob cultivo protegido (CP) e determinado o teor de Cu extraído por Mehlich-1. Dentre os solos, escolheu-se os quatro que apresentaram os maiores teores de Cu, sendo que nestas propriedades também foi amostrado solo no cultivo a campo aberto (CA) e em área não antropizada (CN). Foram determinados os teores de Cu solúvel, disponível e total. Os teores de Cu na solução do solo, na fração disponível e total em áreas de CA e CP são maiores em relação a CN. Alguns solos do ambiente CP apresentaram elevados teores totais de Cu, os quais são potenciais contaminantes ambientais, uma vez que superaram o valor referencial de qualidade e o valor de intervenção constante na legislação ambiental brasileira e estadual, merecendo atenção e monitoramento, assim como a adoção de práticas culturais para redução dos seus teores no solo.

Palavras-chave: metais pesados; contaminação ambiental; Cu-solução do solo; Cu-disponível; Cu-total

ABSTRACT

High copper (Cu) content in soils used for vegetables crops is an agricultural, social and environmental problem. Besides causing toxicity to plants, reducing their growth and production, it can be absorbed and accumulated in plant edible organs, increasing risks of its excessive introduction into the human diet and, in extreme conditions, contamination of soil and water resources. The objective of this work was to diagnose Cu contents and lability in soils cultivated with vegetables in different cropping systems. Soils of twenty-five farms in

Rio Grande do Sul state, Brazil, were sampled in areas under protected cultivation (CP) and the Cu content extracted by Mehlich-1 was determined. Among these farms, four that presented the highest Cu levels in the soil were selected and sampled also in open field (CA) and non-anthropogenic (CN) areas. Soluble, available and total Cu contents were determined. The Cu contents in the soil solution, in the available and total fraction in areas of CA and CP were higher than in CN. Some CP soils showed high total Cu content, which are potential environmental contaminants because it exceeded the quality reference and intervention values of Brazilian environmental legislation. Soil monitoring and cropping practices must be adopted to reduce Cu content in soils of vegetable crops in this State.

Keywords: heavy metals; environmental contamination; Cu-soil solution; Cu-available; Cu-total

1 INTRODUÇÃO

O aumento da população mundial em escala geométrica nas últimas décadas tem exigido uma produção de alimentos massiva e em escala para garantir a segurança alimentar de todos os seres humanos. Neste contexto, a produção de hortaliças destaca-se pelo emprego intensivo de insumos agrícolas químicos e orgânicos, principalmente de fertilizantes (SILVA et al., 2016; ANDRIOLO, 2017). A utilização indiscriminada de fertilizantes agrícolas está associada principalmente a três questões importantes: i) a inexistência e/ou desconhecimento de resultados de pesquisas que indiquem as necessidades de nutrientes minerais durante o crescimento e desenvolvimento das mais de 50 espécies de hortaliças cultivadas no Brasil (FILGUEIRA, 2012); ii) aos curtos ciclos de desenvolvimento das hortaliças, em geral entre 30 e 150 dias, associados à preocupação com a obtenção de elevadas produtividades; e iii) principalmente devido ao emprego de diversos sistemas de cultivo, como o cultivo convencional no solo a campo aberto, cultivo no solo em ambiente protegido e cultivo fora do solo. Isto gera diversas variáveis e especificidades a serem consideradas na formulação, recomendação e manejo da adubação dessas culturas.

Em solos agrícolas, os teores de cobre (Cu) geralmente são naturalmente baixos, mas podem ser elevados devido aos aportes intensivos deste elemento via adubação química e/ou orgânica, como também pelo uso de produtos cúpricos em tratamentos fitossanitários, especialmente os fungicidas, como observado em áreas de vinhedos do Sul do Brasil (BRUNETTO et al., 2018; COMIN et al., 2018). No cultivo de hortaliças, elevadas doses de

adubação química e orgânica (ANDRIOLO, 2017), assim como fungicidas cúpricos são comumente empregados (SILVA et al., 2016). No Brasil, estão registrados 28 produtos formulados a base de Cu, os quais são recomendados para, no mínimo, uma espécie de hortaliça (BRASIL, 2018). O uso frequente desses produtos, associado aos sucessivos cultivos em uma mesma área e as elevadas doses de adubação, podem ocasionar o acúmulo do Cu no solo, o qual normalmente é demandado e absorvido em quantidade reduzida pelas plantas, podendo atingir teores elevados que poderão afetar o balanço nutricional e o crescimento das plantas. Diversos estudos tem demonstrado o acúmulo de Cu em solos de áreas de cultivo protegido nos EUA (DIETRICH et al., 2001) e, principalmente, na China (ZHANG et al., 2011; YANG et al., 2014; HU et al., 2017; WHANG et al., 2017).

Dependendo da sua disponibilidade no solo, o Cu também pode ser absorvido e acumulado nos órgãos vegetais em níveis considerados tóxicos, representando risco à saúde dos consumidores, devido seu potencial acumulativo no organismo humano (MENDOZA et al., 2017), além de redução na produtividade das culturas e prejuízos econômicos aos produtores. No entanto, a fração de Cu disponível é resultado de diversas reações físico-químicas entre o elemento e os diversos constituintes dos solos, principalmente os teores de argila, óxidos e hidróxidos de ferro e alumínio, a matéria orgânica do solo (BRADL, 2004; COUTO et al., 2015), o pH (CHAIGNON et al., 2003; SHAHEEN; TSADILAS; RINKLEBE, 2015) e a capacidade de troca de cátions (CTC) (ARIAS et al., 2005). Portanto, a disponibilidade deste metal pode ser variável entre classes de solos e também em relação aos manejos utilizados nos solos.

A solução extratora CaCl_2 é empregada para avaliar o teor de Cu considerado solúvel por Melo; Nascimento; Santos (2006), ou seja, aquele Cu que está livre para absorção pelas plantas. O extrator Mehlich-1 (Solução de HCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ + H_2SO_4 $0,0125 \text{ mol L}^{-1}$) e HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ são bastante empregados na determinação do Cu disponível, sendo o último considerado o extrator oficial dos laboratórios da ROLAS (CQFS-RS/SC, 2016). Outra metodologia emprega o agente quelante (EDTA) para determinação do Cu disponível e o adsorvido nos sítios de fácil troca (em solução e trocável) (SCHRAMMEL; MICHALKE; KETTRUP, 2000). Para avaliação e monitoramento dos teores totais (pseudototais), são empregados e mundialmente aceitos os métodos desenvolvidos pela United States Environmental Protection Agency (US EPA), como o USEPA 3050B (USEPA 1996). No Brasil, o teor de Cu total é o referencial para avaliação do potencial de contaminação ambiental pelo metal pesado (CONAMA, 2009). Embora essas agências de regulamentação ambiental utilizem os teores totais de Cu para o estabelecimento dos valores referenciais, os

mesmos em muitos casos, podem não afetar as plantas, pois o Cu biodisponível é o que realmente pode causar danos às plantas (MIOTTO et al., 2014) .

O conhecimento e monitoramento das características dos solos das áreas onde são cultivadas hortaliças deve fazer parte da rotina e da preocupação de quem visa a sustentabilidade da cadeia produtiva de hortaliças. Após longos períodos de cultivo, o solo pode apresentar teores elevados de nutrientes/elementos, que podem atingir níveis tóxicos às plantas e seus consumidores e contaminantes ao ambiente, como é o caso dos metais pesados, como o cobre (SILVA et al., 2016). A olericultura é responsável pela produção e fornecimento de alimentos, no entanto, estudos que tragam um diagnóstico da situação das áreas de solos exploradas pelo cultivo de hortaliças no solo em seus diferentes sistemas de cultivo convencional no solo a campo aberto ou cultivo protegido no solo são escassos. Diante disso, o presente trabalho objetivou diagnosticar os teores e a labilidade do Cu presente em solos de áreas cultivadas com hortaliças a campo aberto e em ambientes protegidos.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 LOCAIS DE AMOSTRAGEM DE SOLO

Os locais/municípios nos quais foram coletadas as amostras de solo foram definidos de forma a englobar as cinco regiões classificadas e apresentadas na Portaria Nº 85 emitida pela Fundação Estadual de Proteção Ambiental, publicada em 05/09/2014, a qual estabelece os Valores de Referência de Qualidade (VRQ) dos solos para 9 (nove) elementos químicos naturalmente presentes nas diferentes províncias geomorfológicas/geológicas do Estado do Rio Grande do Sul (RS), dentre eles o Cu.

A localização e escolha prévia das propriedades foi realizada por meio de imagens de satélite disponibilizadas no “Google Earth Pro” e através de visitas às regiões de interesse. Dentre os critérios para escolha das propriedades onde foram coletadas as amostras de solo destacam-se: i) existência de dois sistemas de cultivo, ou seja, o cultivo convencional no solo e cultivo protegido (estufa) com cultivo no solo; ii) cultivo sucessivo de hortaliças por no mínimo cinco anos; e iii) possuir uma área de campo nativo ou mata próxima às áreas cultivadas com hortaliças (não antropizadas). A identificação das propriedades amostradas foi realizada por meio da coleta e anotação das coordenadas geográficas a partir de um navegador GPS Portátil, conforme apresentado na Tabela 1 e Figura 1.

2.2 AMOSTRAGEM DE SOLO

No total 25 propriedades foram amostradas, nas quais as coletas das amostras de solo foram feitas em três ambientes distintos dentro de uma mesma propriedade: área de cultivo convencional a campo aberto (CA); área de cultivo protegido (CP) e área de campo nativo ou de mata (CN), na camada de 0,0-0,20 m, seguindo metodologia proposta pela Resolução 420/2009 (CONAMA, 2009) e recomendação da CQFS-RS/SC (2016). Nas áreas de cultivo foram coletadas 15 subamostras simples para cada amostra composta. As amostras de solo foram coletadas nas entrelinhas de plantio, usando pá de corte, em canteiros com cobertura plástica e/ou plantas adensadas. Nas áreas de campo nativo ou de floresta, a amostragem de solo foi realizada em zigue-zague, sendo coletadas 15 amostras simples para cada amostra composta, usando pá de corte. As amostras foram acondicionadas em sacos plásticos devidamente etiquetados e lacrados. Posteriormente, foram secas ao ar, moídas, passadas em peneira com malha de 2 mm e reservadas.

2.3 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

Inicialmente, uma fração de cada amostra de solo coletada em cultivo protegido (CP) das 25 propriedades amostradas foi encaminhada para o laboratório de análise de solos da Universidade Federal de Santa Maria, onde foi determinado o teor de Cu por meio do extrator Mehlich-1 entre outros parâmetros (Tabelas suplementares 1 e 2). A partir dos resultados, foram escolhidas somente as quatro propriedades que apresentaram maior teor de Cu extraído por Mehlich-1. Para essas propriedades foram determinados os teores de argila e matéria orgânica, o valores de pH em água e de CTC pH 7,0 e também o teores de Cu extraído por Mehlich-1 para os ambientes CN e CA. Nas quatro propriedades foram determinados os teores de Cu-CaCl₂, Cu-EDTA e Cu-EPA.

Os teores de Cu na solução do solo foram extraídos por CaCl₂ (0,01 mol L⁻¹), conforme metodologia proposta por Novozamsky; Lexmond; Houba (1993). Para a análise foi pesada 1,0 g de solo e acondicionada em tubos do tipo Falcon (15 mL). Em seguida foram adicionados 10 ml da solução extratora CaCl₂ (0,01 mol L⁻¹). O solo e solução foram agitados durante duas horas. Ao final, as amostras foram centrifugadas por 15 minutos a 3200 rpm, filtradas em papel filtro (Whatman nº 1, Alemanha) e os teores de Cu foram determinados em espectrofotômetro de absorção atômica (EEA) (Perkin Elmer, Aanalyst 200, EUA).

Os teores disponíveis de Cu (Cu-EDTA) foram analisados com o uso da solução extratora EDTA ($\text{Na}_2\text{-EDTA}$ $0,01\text{mol L}^{-1}$ /acetato de amônio $1,0\text{ mol L}^{-1}$ com pH ajustado para 7,0) (CHAIGNON; HINSINGER, 2003). Os teores pseudototais de Cu (Cu-EPA) foram determinados de acordo com o método 3050B (USEPA, 1996), da Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA) por oxidação e ataque ácido usando HNO_3 , H_2O_2 e HCl, concentrado sob aquecimento. Os teores de Cu foram determinados em espectrofotômetro de absorção atômica (EEA) (Perkin Elmer, Analyst 200, EUA).

2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os teores de Cu determinados por CaCl_2 , EDTA e EPA em cada um dos ambientes (CN; CA; CP) das quatro propriedades foram comparados utilizando contrastes ortogonais por meio do software SISVAR versão 5.2. Para as demais variáveis foi realizada a análise descritiva.

3 RESULTADOS

3.1 ATRIBUTOS RELACIONADOS À DISPONIBILIDADE DE COBRE

As quatro propriedades selecionadas (23R1, 3R1, 11R1 e 9R1) para análises mais detalhadas dos teores de Cu, foram classificadas e inseridas na região geomorfológica 1 (Figura 1), cujo material de origem são rochas vulcânicas do Planalto (FEPAM, 2014). Os solos das propriedades 23R1 e 3R1 foram classificados como Latossolos (Tabela 1), os quais apresentam teores de argila maiores do que os Chernossolos amostrados nas propriedades 11R1 e 9R1 (Tabela 1; Tabela 2). Os teores de argila nos Latossolos variaram de 360 g kg^{-1} de solo observado em CN de 3R1 até 790 g kg^{-1} de solo observado em CA de 23R1. Nos Chernossolos observou-se que o teor de argila variou de 90 g kg^{-1} de solo coletado em CP de 11R1 a 320 g kg^{-1} de solo do CN de 9R1.

O maior teor de matéria orgânica do solo (MOS) nas propriedades 23R1, 3R1, 11R1 e 9R1 foi observado nas amostras oriundas do ambiente CP, sendo de 31, 30, 29 e 28 g kg^{-1} de solo, respectivamente (Tabela 2). Em 23R1 e 9R1, os menores teores de MOS foram observados em CA, com 22 e 17 g kg^{-1} de solo, enquanto que para 3R1 e 11R1 essas ocorreram em CN com 18 e 12 g kg^{-1} de solo, respectivamente.

Dentre os ambientes avaliados em cada propriedade amostrada, os solos com maiores valores de pH foram observados em CN para 23R1 com 5,7; CN=CP para 3R1 com 5,3; CA para 11R1 com 6,3 e CP para 9R1 com 7,4 (Tabela 2). Os pHs mais baixos foram observados em CP de 23R1 com 5,3; CA de 3R1 com 4,8 e CN de 11R1 e 9R1 com 4,6 e 5,3, respectivamente.

Os maiores valores da capacidade de troca de cátions (CTC pH7,0) foram observados no ambiente CP de 23R1, 3R1 e 11R1 com 17,0, 22,6 e 8,4, respectivamente, e no CN para 9R1 com 16,2 (Tabela 2). Os menores valores de CTCs foram observados no CA de 23R1 e 9R1 com 11,5 e 6,0, respectivamente, e no CN de 3R1 com 7,9 e no CP para 9R1 com 12,9.

Nas propriedades selecionadas, os maiores teores de Cu, extraídos por Mehlich-1 foram numericamente maiores no ambiente de CP com 60; 13,9; 10,0 e 12,5 mg Cu dm⁻³ de solo, respectivamente (Tabela 2). Os menores teores de Cu foram de 7,4; 1,1; e 1,5 no CN de 23R1, 3R1, 11R1, respectivamente, e de 2,67 em CA de 9R1.

3.2 COBRE NO SOLO

Os valores de Cu extraídos por CaCl₂ (Cu-CaCl₂) diferiram estatisticamente entre as áreas de campo nativo ou mata (CN), cultivo a campo aberto (CA) e cultivo protegido (CP) (Tabela 3). Na propriedade 23R1, o maior teor de Cu-CaCl₂ foi observado no solo do cultivo protegido (CP), diferindo significativamente dos teores observados nos solos do CA e CN. Os teores de Cu-CaCl₂ nestas duas áreas não diferiram significativamente entre si, sendo o teor médio da área de cultivo a campo aberto (CA) de 0,18 mg Cu kg⁻¹ e campo nativo ou mata (CN) de 0,14 mg Cu kg⁻¹. Na propriedade 3R1, os teores verificados em CA e CP, não diferiram entre eles, mas foram maiores que o observado em CN. Na propriedade 11R1 os teores de Cu-CaCl₂ nos solos dos três sistemas diferiram significativamente, sendo o teor de Cu no CP > CA > CN. Os teores de Cu-CaCl₂ na propriedade 9R1 CP e CA não diferiram significativamente entre si, mas diferiram de CN.

Os teores de Cu-disponível, extraídos por EDTA (Cu-EDTA), referentes às áreas CP, CA e CN diferiram significativamente dentro de cada propriedade amostrada (Tabela 3). A propriedade 23R1 apresentou disponibilidade de 105,41 mg de Cu kg⁻¹ de solo em CP, sendo significativamente superior as médias observadas em CA e CN. Na propriedade 3R1, os teores de Cu-EDTA observados em CP e CA não diferiram significativamente entre eles, os quais foram significativamente maiores ao teor observado em CN. Na propriedade 11R1, os teores de Cu-EDTA observados diferiram significativamente entre as três áreas, sendo a

sequência CP > CA > CN. Os teores de Cu-EDTA no solo na área CP e CA na propriedade 9R1 não diferiram significativamente entre si, mas diferiram do teor observado em CN.

Os teores pseudototais de Cu no solo (Cu-EPA) coletadas nos diferentes ambientes em 23R1, 3R1, 11R1 e 9R1 apresentaram diferenças significativas (Tabela 3). Para 23R1 os teores de Cu observados em CN e CA não diferiram significativamente. Os teores de Cu-EPA observados em CN e CA em 23R1 diferiram significativamente dos teores verificados no solo no CP. Na propriedade 3R1 os teores de Cu-EPA em CP e CA não diferiram significativamente entre si, mas diferiram significativamente de CN que apresentou média de 18,97 mg Cu kg⁻¹ de solo. Para a propriedade 11R1 o menor teor de Cu-EPA foi observado em CN, diferindo de CP e CA, os quais não diferiram entre eles. Os teores de Cu-EPA observados no solo da propriedade 9R1 diferiram significativamente entre eles, sendo CP > CA > CN.

Os teores de Cu-EPA e Cu-EDTA mostraram uma correlação de 0,45 para os Latossolos amostrados em 23R1 e 3R1 (Figura 2 a) e para os Chernossolos amostrados em 11R1 e 9R1 (Figura 2 b).

4 DISCUSSÃO

A região onde estão localizadas as propriedades 9R1 e 11R1 é caracterizada pela transição do Planalto e Depressão Central (Figura 1), onde os solos são mais arenosos devido à proximidade de afloramentos de materiais sedimentares (ex: arenito da formação Botucatu e Rosário do Sul) (CPRM, 2006). O relevo é suavemente ondulado e há ocorrência de iluviação de argila para as camadas mais profundas, possivelmente favorecidas pelo revolvimento frequente, característica do cultivo convencional do solo (NASCIMENTO et al., 2014).

Nessas propriedades também foram observados valores de pH mais elevados nas áreas cultivadas com hortaliças, sendo que isso pode ser atribuído às recentes aplicações de corretivos da acidez do solo, como o calcário. Nessas condições de pH, próximas à neutralidade, a retenção e adsorção de Cu são favorecidas (BRADL, 2004), principalmente em solos com maior grau de intemperização, como nos Latossolos (SILVA et al., 2016). Nesses solos geralmente estão presentes grandes quantidades de óxidos de Fe e Al, nos quais o Cu da fração trocável poderá se ligar, reduzindo sua solubilidade (ABREU; LOPES; SANTOS, 2007, JORIS et al., 2012). Em solos com maior acidez, a disponibilidade e, por consequência, a mobilidade e o potencial de toxidez do Cu tendem a ser maiores (CHAIGNON et al. 2003; PIETRZAK; MCPHAIL, 2004). Isso porque, quanto menor o pH,

maior será a concentração de H^+ em solução, aumentando a competição por sítios de adsorção, o que diminui a adsorção específica de cátions, como o Cu, junto às frações sólidas do solo, e aumenta a concentração de Cu na solução do solo (ERNANI, 2008; MOUTA, SOARES, CASAGRANDE, 2008).

Os valores de CTC pH_7 observados em 23R1, 3R1 e 11R1 são matematicamente maiores no ambiente CP, em comparação a CA e CN. Portanto, nesses ambientes de maior CTC se espera uma maior adsorção de Cu e, por consequência, menor disponibilidade do metal, pois esse é um fator importante na dinâmica do Cu no solo, pois atua diretamente nas concentrações dos íons presentes na solução do solo e nos sítios de troca (interface líquido-sólido) (MATTIAS et al., 2010). Por outro lado, baixas CTCs, como as observadas em 11R1 indicam que o solo tem capacidade reduzida para a retenção de cátions em forma trocável; nesse caso, adubações pesadas e frequentes devem ser evitadas para reduzir as perdas por lixiviação e possíveis contaminações de áreas adjacentes e mananciais hídricos, bem como a toxidez às plantas.

Os maiores teores de MOS observados no ambiente CP nas propriedades 23R1, 3R1, 11R1 e 9R1, podem estar relacionados à redução da atividade da biomassa microbiana o que, por consequência, pode reduzir a degradação da MOS devido à menor circulação de água no sistema solo, devido à não incidência de chuva, redução da radiação solar e também pela maior concentração de sais oriundos das adubações frequentes nesse ambiente, os quais podem prejudicar a proliferação e o desenvolvimento de microorganismos (CHAN, HEENAN, SO, 2003; PAN et al., 2015; MAVI, MARSCHNER et al., 2017). Embora o teor de MOS observado nos ambientes e propriedades avaliados represente em média, cerca de 2% dos componentes sólidos dessas áreas, ela é importante no controle da disponibilidade de Cu, pois possui elevada afinidade ao metal e pode complexar grandes concentrações deste elemento (GIROTTO et al., 2010; COUTO et al., 2015).

Com base nos teores de Cu extraídos por Mehlich-1 é possível observar que nos ambientes que não foram cultivados previamente (CN), nas quatro propriedades o teor de Cu está enquadrado na classe de disponibilidade “alto”, segundo os teores referenciais da CQFS-RS/SC (2016). Isso provavelmente está associado ao material de origem destes solos, pois os solos derivados de rochas basálticas constituem um material de origem rico em Cu (ARENA; HARTMANN; BAGGIO, 2014; ALTHAUS et al., 2018). Portanto, nessas condições não seriam necessárias adições de Cu para o cultivo da grande maioria das hortaliças, pois o solo naturalmente já seria capaz de suprir a necessidade dessas culturas. Desta forma, adições intencionais ocorrem sem considerar os critérios técnicos estabelecidos. Contudo, ainda

ocorrem adições não intencionais, por meio de agrotóxicos ou fertilizantes químicos e orgânicos que contém este elemento em diversas concentrações (MOLINA et al., 2009; KELEPERTZIS, 2014; NASCIMENTO et al., 2014).

Entre as propriedades amostradas, observa-se que 11R1 e 9R1 apresentam teores de Cu na solução (Cu-CaCl₂) superiores aos observados em 23R1 e 3R1 (Tabela 3), isso está relacionado aos diferentes teores de argila presentes nas áreas, pois o Cu presente na solução do solo é resultante das reações de adsorção/dessorção, complexação e precipitação, as quais afetam a distribuição do metal entre a fração sólida e líquida do solo, sendo responsáveis pela sua mobilidade e biodisponibilidade (McBRIDE; SAUVÉ; HENDERSHOT, 1997). Em solos mais argilosos e com maiores teores de óxidos e hidróxidos de ferro pode ocorrer formação de complexos de esfera interna, altamente estáveis, e a diminuição da dessorção de Cu (SILVEIRA; ALLEONI, 2003; SPARKS, 2005). Segundo Brunetto et al., (2018), a concentração de Cu na solução do solo geralmente é baixa, aproximadamente 2% do teor total, sendo que no presente estudo, quando comparados os teores de Cu extraído por CaCl₂ (Cu-solução) ao extraído pelo método EPA (Cu-pseudototal), observou-se percentagens variando de 0,1 a 1,7% nos Latossolos (23R1 e 3R1) e de 3,1 a 5,5% nos Chernossolos (11R1 e 9R1).

A maior disponibilidade de Cu (Cu-EDTA) observada nas áreas amostradas em 23R1 e 3R1 pode ser atribuída ao pH mais ácido (BRUN et al., 2001; CHAIGNON et al., 2003; PIETRZAK; MCPHAIL, 2004), o que pode aumentar o potencial de toxidez às hortaliças não tolerantes ao Cu, quando cultivadas nessas condições. Sob condições de pH mais elevado do solo, inicialmente ocorre um aumento da CTC, o que contribui para o aumento na ligação de Cu à fase sólida do solo (MCLAREN; CRAWFORD, 1973), o que diminui a mobilidade do Cu, ou seja, reduz a fração trocável, como é observado nos solos 11R1 e 9R1 com relação ao Cu-EDTA (Tabela 3).

As correlações entre os teores de Cu-EPA e Cu-EDTA nas propriedades 23R1 e 3R1 (Figura 2 a) e propriedades 11R1 e 9R1 (Figura 2 b), indicam que 45% do Cu-EPA foi extraído pelo EDTA e que, portanto, representa a fração disponível às plantas. Com isso, em 23R1, 3R1, 11R1 e 9R1 os teores disponíveis superam o teor referenciado como necessário às plantas de 1,0 mg kg⁻¹ (CQFS RS/SC, 2016) em 115, 50, 10 e 15 vezes. Porém, alguns estudos relatam que o EDTA pode extrair entre 10% e até 95% do Cu total (BRUN et al., 1998; BRUNETTO et al., 2018). Altas correlações Cu-EDTA com Cu total podem não corresponder com os teores realmente absorvidos pelas plantas, devido às características das próprias plantas, as quais podem alterar as propriedades físicas e químicas junto à rizosfera

por meio da liberação de exsudatos e, desta forma, influenciar a disponibilidade e a mobilidade do Cu na rizosfera para as raízes, induzindo a alterações nas concentrações iônicas e no pH (MIOTTO et al., 2017).

O teor total de Cu (Cu-EPA) presente em um solo, apesar de geralmente não apresentar uma relação direta com o Cu absorvido e acumulado pelas plantas (MIOTTO et al., 2014), é o referencial para avaliação do potencial de contaminação ambiental pelo metal pesado em diversos países como o Brasil (CONAMA, 2009), Estados Unidos da América (USEPA, 1993), Austrália e Nova Zelândia (ANZECC/NHMRC, 1992) e na Europa (Council Directive 86/278/EEC, 1986). Na legislação ambiental brasileira foram estipuladas concentrações totais de Cu em áreas exploradas pela agricultura como valores referenciais para a prevenção (VP) e para investigação (VI), sendoas mesmas de 60 e 200 mg kg⁻¹, respectivamente (CONAMA 2009). No entanto, legislações estaduais apresentam valores distintos e outros parâmetros. No estado de São Paulo, 35 mg Cu kg⁻¹ de solo é considerado o valor de referência de qualidade (VRQ), enquanto o VI para solos agrícolas é de 760 mg Cu kg⁻¹, determinados pelos métodos 3050B ou 3051A, da USEPA (CETESB, 2016). Para o estado do Rio Grande do Sul foram estipulados VRQs de acordo com solos das cinco regiões geomorfológicas, os quais variam de 9 a 203 mg Cu kg⁻¹ de solo agrícola e VI=VRQ=VP de 203 mg Cu kg⁻¹ em solos agrícolas da região 1 (FEPAM, 2014), na qual estão inseridas as quatro propriedades avaliadas no presente estudo. Diante desses referenciais, embora os mesmos apresentem diferenças, é possível observar que os solos amostrados em CN, CA e CP de 23R1 e CA e CP de 3R1 superam os respectivos VRQs de acordo com a legislação do CONAMA e CETESB. Somente o teor de Cu total de 260,23 mg Cu kg⁻¹ do solo amostrado em CP de 23R1 (Tabela 3) supera os valores de investigação do CONAMA e da FEPAM, o que indica a necessidade de práticas que reduzam o teor de Cu nos solos dessa área amostrada (CONAMA 2009), porém o mesmo está abaixo do VI estipulado pela CETESB.

De uma forma geral, os teores de Cu presentes no solo foram maiores nas áreas de solo cultivados em CP e CA. Além do uso de fertilizantes químicos e orgânicos, esses aumentos podem estar associados ao uso de fungicidas, especialmente os cúpricos, cujos princípios ativos mais comuns são o oxiclreto de Cu e o sulfato de Cu, os quais apresentam elevada eficácia e baixo custo. O acúmulo de Cu no solo pode ocorrer porque a prática de aplicações destes fungicidas nas áreas de cultivo de hortaliças foi elencada como rotineira, sendo realizada semanalmente, pelos agricultores nas quatro propriedades estudadas.

Outra característica importante a ser considerada em estudos futuros é a prática do frequente revolvimento dos solos cultivados com hortaliças, seja em cultivo a campo aberto

ou cultivo protegido. Ao longo dos ciclos de cultivo das culturas agrícolas, a camada superficial do solo (0-5 cm) recebe de forma direta o Cu e demais nutrientes aportados via adubação em superfície e/ou oriundos de aplicações foliares (fertilizantes e agrotóxicos), sendo nela frequentemente observados os maiores teores de Cu (DE CONTI et al., 2016; TIECHER et al., 2017; MIOTTO et al., 2017; COMIN et al., 2018; BRUNETTO et al., 2018). Desta forma, o revolvimento do solo, além de misturar e homogeneizar o Cu, pode acelerar a transferência destes teores elevados do metal pesado para camadas mais profundas (MIOTTO et al., 2017), aumentando riscos de contaminação ambiental em áreas com elevados teores de Cu. Isto pode ocorrer por meio da transferência física do Cu ligado a fração sólida do solo da camada superficial para os mananciais hídricos por meio da erosão de partículas do solo, bem como pela lixiviação do Cu em solução (FERNÁNDEZ-CALVIÑO et al. 2012, SILVA et al., 2016). Cabe ressaltar que na região em que estão inseridas as propriedades 11R1 e 9R1, a atividade agropecuária e os insumos nela empregados são considerados fontes de contaminação das águas pelo Cu (FEPAM, 2013, NASCIMENTO et al., 2014).

As propriedades 23R1, 3R1, 11R1 e 9R1 cultivam hortaliças a 31, 24, 28 e 23 anos, respectivamente. Isso reforça a importância da determinação dos teores de Cu nas camadas mais profundas do solo, pois ao longo desse período estima-se que tenham ocorrido pelo menos 100 revolvimentos do solo, considerando-se somente uma operação de revolvimento por ciclo (aração ou gradagem) e a realização de quatro ciclos de cultivo por ano (implantação), sem considerar o encanteiramento, outro processo de revolvimento muito comum em cultivos convencionais no solo (FILGUEIRA, 2012; NASCIMENTO et al., 2014; ANDRIOLO, 2017), o que dobraria o número de operações. Portanto, reduções no número de revolvimentos e adoção de práticas conservacionistas, como o cultivo mínimo e o plantio direto de hortaliças, poderão minimizar a transferência de Cu via erosão e lixiviação. No entanto, com isso poderá ocorrer a concentração de Cu na camada mais explorada pelo sistema radicular da maioria das hortaliças (0-20 cm) (FILGUEIRA, 2012). Além disso, com o revolvimento do solo pode ocorrer o aumento da oxidação da MOS, que pode aumentar a disponibilidade de Cu, pois a mesma é responsável por boa parte da complexação de Cu (GIROTTI et al., 2010; BRUNETTO et al., 2018).

Os altos teores de Cu-EDTA e Cu-EPA observados no solo CP de 23R1 podem ser atribuídos à existência de uma área de videira na qual foram realizadas aplicações frequentes de calda bordalesa, anteriormente ao uso para cultivo protegido de hortaliças (informações do proprietário). Isto evidencia um possível cenário que poderá ocorrer com maior frequência em regiões tradicionalmente dedicadas ao cultivo de videiras, como nas regiões Sul do estado de

Santa Catarina e na da Serra do estado do Rio Grande do Sul, as quais já apresentam áreas com teores elevados de Cu, relatados como prejudiciais às plantas avaliadas (CASALI et al. 2008; NOGUEIROL et al., 2010; BRUNETTO et al., 2016; BRUNETTO et al., 2018; COMIN et al., 2018). Nessas áreas, caso venha ocorrer a substituição da videira pelo cultivo de espécies de hortaliças sensíveis ao Cu, o crescimento das plantas e a produção dessas culturas poderá ser prejudicada, assim como possivelmente já possa estar ocorrendo na propriedade 23R1 avaliada nesse estudo. Nesses casos, o excesso de Cu nos solos cultivados com hortaliças também pode resultar em elevadas concentrações de Cu em partes das plantas que compõem a dieta humana, o que predispõe seus consumidores a ingestão excessiva deste metal, uma vez que o consumo de hortaliças é considerado a principal fonte de exposição humana a metais pesados, podendo ser responsável por 90% da ingestão total (MARTORELL et al., 2011; REHMAN et al., 2017).

5 CONCLUSÃO

Foram constatados incrementos nos teores de Cu no solo em áreas cultivadas com hortaliças em decorrências dos tratamentos culturais e manejos aplicados ao solo, alterando teores de Cu na solução do solo, na fração disponível e Cu total, tanto em áreas de CA, como de CP. Esse aumento nos teores de Cu em formas mais lábeis favorece a biodisponibilidade do metal no solo, podendo ocasionar danos às plantas e microrganismos do solo, bem como aumenta o risco de contaminação ambiental. O solo do ambiente CP da propriedade 23R1 apresentou teor total de Cu potencialmente contaminante, o qual superou o valor referencial de qualidade e valor de intervenção constante na legislação ambiental brasileira e estadual, merecendo atenção e monitoramento assim como a adoção de medidas para redução ou estabilização do seu teor. Isto evidencia a importância da realização de estudos futuros envolvendo a coleta e as determinações dos teores de Cu em hortaliças cultivadas nos solos amostrados, os quais contribuirão com a elucidação da ocorrência de fitotoxicidade e dos riscos associados à saúde dos consumidores de hortaliças cultivadas em ambientes com teores elevados deste metal.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, C. A.; LOPES, A. S.; SANTOS, G. C. G. Micronutrientes. In: NOVAIS, R. F. et al. **Fertilidade do solo**. Viçosa, MG: SBCS, 2007. p.645-736.

ALTHAUS, D. et al. Natural fertility and metals contentes in soils of Rio Grande do Sul (Brazil). **Rev Bras Cienc Solo**, v.42, 2018. DOI:e0160418.
<https://doi.org/10.1590/18069657rbc20160418>.

ANDRIOLO, J. L. **Olericultura geral**. 3. ed. Santa Maria, RS: Ed. da UFSM, 2017. 96 p.

ANZECC, N. **Australian and New Zealand guidelines for the assessment and management of contaminated sites**. Australian and New Zealand Environment and Conservation Council, National Health and Medical Research Council. Canberra: The Councils, 1992. Disponível em
<http://trove.nla.gov.au/work/18093032?q&versionId=21236483>. Acesso em 08 jun. 2018.

ARENA, K. T.; HARTMANN, L. A.; BAGGIO, S. B. Geological controls of copper gold and silver in the Serra Geral Group, Realeza regiona, Paraná, Brazil. **Ore Geology Reviews**, v. 63, p. 178-200, 2014.

ARIAS, M. et al. Adsorption and desorption of copper and zinc in the surface layer of acid soils. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 288, p.21–29, 2005.
Doi:10.1016/j.jcis.2005.02.053.

BRADL, H. B. Adsorption of heavy metal ions on soils and soils constituents. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 277, p. 1–18, 2004. Doi:10.1016/j.jcis.2004.04.005.

BRASIL. **Sistema de agrotóxicos fitossanitários (AGROFIT)**. Disponível em
http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acessado em 15 jun. 2018.

BRUN, L. A. et al. Evaluation of copper availability to plants in copper contaminated vineyard soils. **Environmental Pollution**, v. 111, p. 293–302, 2001.
Doi:10.1016/S0269-7491(00)00067-1.

BRUNETTO, G. et al. Copper accumulation in vineyard soils: Rhizosphere processes and agronomic practices to limit its toxicity. **Chemosphere**, v. 132, p. 293-307, 2016. DOI:
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.07.104>.

BRUNETTO, G. et al. Copper and zinc accumulation, fractionation and migration in vineyard soils from Santa Catarina State, Brazil. **Bragantia**, v. 77, n.1, p. 141-151, 2018. DOI:
<https://dx.doi.org/10.1590/1678-4499.2016391>.

CASALI, C. A. et al. Formas e dessorção de cobre em solos cultivados com videira na Serra Gaúcha do Rio Grande do Sul. **Bras. Ciênc. Solo**. v, 32, p. 1479–87, 2008.
DOI:10.1590/S0100-06832008000400012.

CETESB – COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL.
DECISÃO DE DIRETORIA Nº 256/2016/E, DE 22 DE NOVEMBRO DE 2016. Dispõe sobre a aprovação dos Valores Orientadores para Solos e Águas Subterrâneas no Estado de São Paulo – 2016. DOE, Poder Executivo, SP, 24/11/2016, seção 1, v. 126, n. 219, p. 55–56, 2016.

CHAN, K. Y.; HEENAN, D. P., SO, H. B. Sequestration of carbon and changes in soil quality under conservation tillage on light-textured soils in Australia: a review. **Aust. J. Exp. Agr.**, v. 43, p. 325–334, 2003.

CHAIGNON, V.; HINSINGER, P. A biotest for evaluating copper bioavailability to plants in a contaminated soil. **Journal of Environmental Quality**, v. 32, p. 824–33, 2003.
DOI:10.2134/jeq2003.8240.

CHAIGNON, V. et al. Copper bioavailability and extractability as related to chemical properties of contaminated soils from a vine-growing area. **Environmental Pollution**, v. 123, p. 229-238, 2003. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0269-7491\(02\)00374-3](https://doi.org/10.1016/s0269-7491(02)00374-3).

COMIN, J. J. et al. Liming as a means of reducing copper toxicity in black oats. **Ciência Rural**, v. 48, n. 4, 2018. DOI: <https://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20170278>

CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente. 2009. Resolução 420, de 28 /12/2009 Dispõe sobre critérios e valores orientadores de qualidade do solo quanto à presença de substâncias químicas e estabelece diretrizes para o gerenciamento ambiental de áreas contaminadas por essas substâncias em decorrência de atividades antrópicas. Brasília-DF, Brazil: **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, 249.

COUTO, R. R. et al. Accumulation and distribution of copper and zinc in soils following the application of pig slurry for three to thirty years in a microwatershed of southern Brazil. **Archives of Agronomy and Soil Science**, v. 62, p. 593-616, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1080/03650340.2015.1074183>.

CPRM – Comissão de Pesquisa em Recursos Minerais. Mapa geológico do estado do Rio Grande do Sul. Escala 1:750.000. **Projeto Geologia do Brasil ao Milionésimo**. 2006.

CQFS-RS/SC – Comissão de Química e Fertilidade do Solo – RS/SC. **Manual de calagem e adubação para os Estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina**. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. 2016. 376p.

DE CONTI, L. et al. Soil solution concentrations and chemical species of copper and zinc in a soil with a history of pig slurry application and plant cultivation. Agriculture, **Ecosystems and Environment**, v. 216, p. 374–386, 2016.

DIETRICH, A. M., GALLAGHER, D. L., KLAWITER, K. A. Inputs of copper-based crop protectants to coastal creeks from pasticulture runoff. **Journal of the American Water Resources Association**, v. 37, 2001.

COUNCIL DIRECTIVE 86/278/EEC. Protection of the environment, and in particular of the soil, when sewage sludge is used in agriculture. **Official Journal of the European Union**, v. 181, 1986.

ERNANI, P. R. **Química de solo e disponibilidade de nutrientes**. Lages, Paulo Ernani, 2008. 230p.

FUNDAÇÃO ESTADUAL DE PROTEÇÃO AMBIENTAL HENRIQUE LUIZ
ROESSLER/RS – FEPAM. **Qualidade das águas da Bacia Hidrográfica do Caí**. 2003.
Acesso em 03 mar. 2018. http://www.fepam.rs.gov.br/qualidade/qualidade_cai/cai.asp

FUNDAÇÃO ESTADUAL DE PROTEÇÃO AMBIENTAL HENRIQUE LUIZ
ROESSLER/RS - FEPAM. Portaria Fepam nº 85/2014. **Dispõe sobre o estabelecimento de Valores de Referência de Qualidade (VRQ) dos solos para 09 (nove) elementos químicos naturalmente presentes nas diferentes províncias geomorfológicas/geológicas do Estado do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre; 2014 [acesso em 29 mai 2015]. Disponível em: <http://www.fepam.rs.gov.br/legislacao/arq/Portaria085-2014.pdf>.

FERNÁNDEZ-CALVIÑO, D. et al. Copper distribution and acid-base mobilization in vineyard soils and sediments from Galicia (NW Spain). **European Journal of Soil Science**, v. 59, p. 315-326, 2008.

FILGUEIRA, F. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. 3ª edição. Viçosa: UFV, 2012, 418p

HU, W. et al. Heavy metals in intensive greenhouse vegetable production systems along Yellow Sea of China: Levels, transfer and health risk. **Chemosphere**, v. 167, p. 82- 90, 2017.

GIROTTO, E. et al. Acúmulo e formas de cobre e zinco no solo após aplicações sucessivas de dejetos líquidos de suínos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 34, n. 3, p. 955-965, 2010. DOI: <https://dx.doi.org/10.1590/S0100-06832010000300037>

JORIS, H. A. W. et al. Adsorção de metais pesados após calagem superficial em um Latossolo Vermelho sob sistema de plantio direto. **Revista Ciência Agronômica**, v. 43, n. 1, p. 1-10, 2012.

KELEPERTZIS, E. Accumulation of metals in agricultural soils of Mediterranean: insights from Argolida basin, Peloponnese, Greece. **Geoderma**, v. 221 - 222, n. 1, p. 82-90, 2014.

MATTIAS, J. L. et al. Copper, zinc and manganese in soils of two watersheds in Santa Catarina with intensive use of pig slurry. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 34, p. 1445-1454, 2010.

MAVI, M.; MARSCHNER, P. Impact of Salinity on Respiration and Organic Matter Dynamics in Soils is More Closely Related to Osmotic Potential than to Electrical Conductivity. **Pedosphere**, v. 27, n. 5, p. 949-956, 2017. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(17\)60418-1](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(17)60418-1)

MCBRIDE, M.; SAUVÉ, S.; HENDERSHOT, W. Solubility control of Cu, Zn, Cd and Pb in contaminated soils. **European Journal of Soil Science**, v. 48, p. 337-346, 1997. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2389.1997.tb00554.x>

MCLAREN, R. G.; CRAWFORD, D. V. Studies on soil copper. 1- The fractionation of copper in soils. **J. Soil Sci.**, v. 24, p. 172-181, 1973.

MELO, E. C.; NACIMENTO, C. W. A.; SANTOS, A. C. Q. Solubilidade, fracionamento e fitoextração de metais pesados após a aplicação de agentes quelantes. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 30, p. 1051-1060, 2006.

MENDOZA, C. J. et al. Evaluation of the bioaccessible gastric and intestinal fractions of heavy metals in contaminated soils by means of a simple bioaccessibility extraction test. **Chemosphere**, v. 176, p. 81- 88, 2017.

MIOTTO, A. et al. Copper uptake, accumulation and physiological changes in adult grapevines in response to excess copper in soil. **Plant Soil**, v. 374, p. 593–610, 2014.

MIOTTO, A. et al. Copper Accumulation and Availability in Sandy, Acid, Vineyard Soils. **Communications in soil science and plant analysis**, v. 48, p. 1-7, 2017.
DOI: <https://doi.org/10.1080/00103624.2017.1341908>.

MOLINA, M. et al. Trace element composition of selected fertilizers used in Chile: Phosphorus fertilizers as a source of long-term soil contamination. **Soil Sed. Contam.**, v. 18, p. 497-511, 2009.

MOUTA, E. R.; SOARES, M. R.; CASAGRANDE, J. C. Copper adsorption as a function of solution parameters of variable charge soils. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 19, n. 5, p. 996-1009, 2008. DOI: <https://dx.doi.org/10.1590/S0103-50532008000500027>.

NASCIMENTO, P. C. do. et al. Uso da terra e atributos de solos do estado do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 18, n.9, p. 920-926, 2014.
DOI: <https://dx.doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v18n09p920-926>

NOGUEIROL, R. C. N. et al. Sequential extraction and availability of copper in Cu fungicide-amended vineyard soils from southern Brazil. **Journal of Hazardous Materials**, v. 181, p. 931-937, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2010.05.102>.

NOVOZAMSKY, I.; LEXMOND, T. M.; HOUBA, V. J. G. A single extraction procedure of soil for evaluation of uptake of some heavy metals by plants. **Int. J. Environ. Anal. Chem.**, v. 51, p. 47-58, 1993.

PIETRZAK, U.; MCPHAIL, D. C. Copper accumulation, distribution and fractionation in vineyard soils of Victoria, Australia. **Geoderma**, v. 122, p. 151-166, 2004.

PAN, X. et al. Functional traits drive the contribution of solar radiation to leaf litter decomposition among multiple arid-zone species. **Sci. Rep.**, v. 5, n. 13217, 2015. DOI: 10.1038/srep13217 (2015).

REHMAN, Z. U. et al. Transfer of Heavy Metals from Soils to Vegetables and Associated Human Health Risk in Selected Sites in Pakistan, *Pedosphere*, 2017, DOI: 10.1016/S1002-0160(17)60440-5.

SCHRAMMEL, O.; MICHALKE, B.; KETTRUP, A. Study of the copper distribution in contaminated soils of hop fields by single and sequential extraction procedures. **The Science of The Total Environment**, v. 263, 11-22, 2000. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0048-9697\(00\)00606-9](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(00)00606-9).

SHAHEEN, S. M.; TSADILAS, C. D.; RINKLEBE, J. Immobilization of soil copper using organic and inorganic amendments. **Journal Plant Nutrition Soil Science**, v. 178, p. 112-117, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1002/jpln.201400400>.

SILVA, L. S. et al. Heavy metal contents in Latosols cultivated with vegetable crops. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 46, p. 391–400, 2016

SILVEIRA, M. L. A.; ALLEONI, L. R. F. Copper adsorption in tropical soils. **Braz. Arch. Bio. Tech.**, v. 46, p. 529-536, 2003.

SPARKS, D.L. **Metal and oxyanion sorption on naturally occurring oxide and clay mineral surfaces**. In: Grassian V (ed) Environmental Catalysts, Taylor and Francis Books Inc, Boca Raton, FL., 2005.

TIECHER, T. L. et al. Tolerance and translocation of heavy metals in young grapevine (*Vitis vinifera*) grown in sandy acidic soil with interaction of high doses of copper and zinc. **Sci. Hortic.**, v. 222, p. 203–212, 2017.

USEPA - United States Environmental Protection Agency. **40 CFR-Standards for the use and disposal of sewage sludge**. Washington, 1993. Part 503. p. 9387-9415. (Federal Register, 58, 32).

USEPA United States Environmental Protection Agency. 1996. **Method 3050B Acid digestion of sediments, sludges, and soils**. Revision 2, Washington. <http://www.epa.gov/wastes/hazard/testmethods/sw846/pdfs/3050b.pdf>. (acesso em 02 out., 2015).

WHANG, J. et al. Effect of cultivation ages on Cu accumulation in Greenhouse Soils in North China 2017 IOP Conf. Ser.: **Earth Environ. Sci.** v. 94, n. 012071, 2017.

YANG, L. et al. The impact of greenhouse vegetable farming duration and soil types on phytoavailability of heavy metals and their health risk in eastern China. **Chemosphere**. v. 103, p. 121-130, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.11.047>

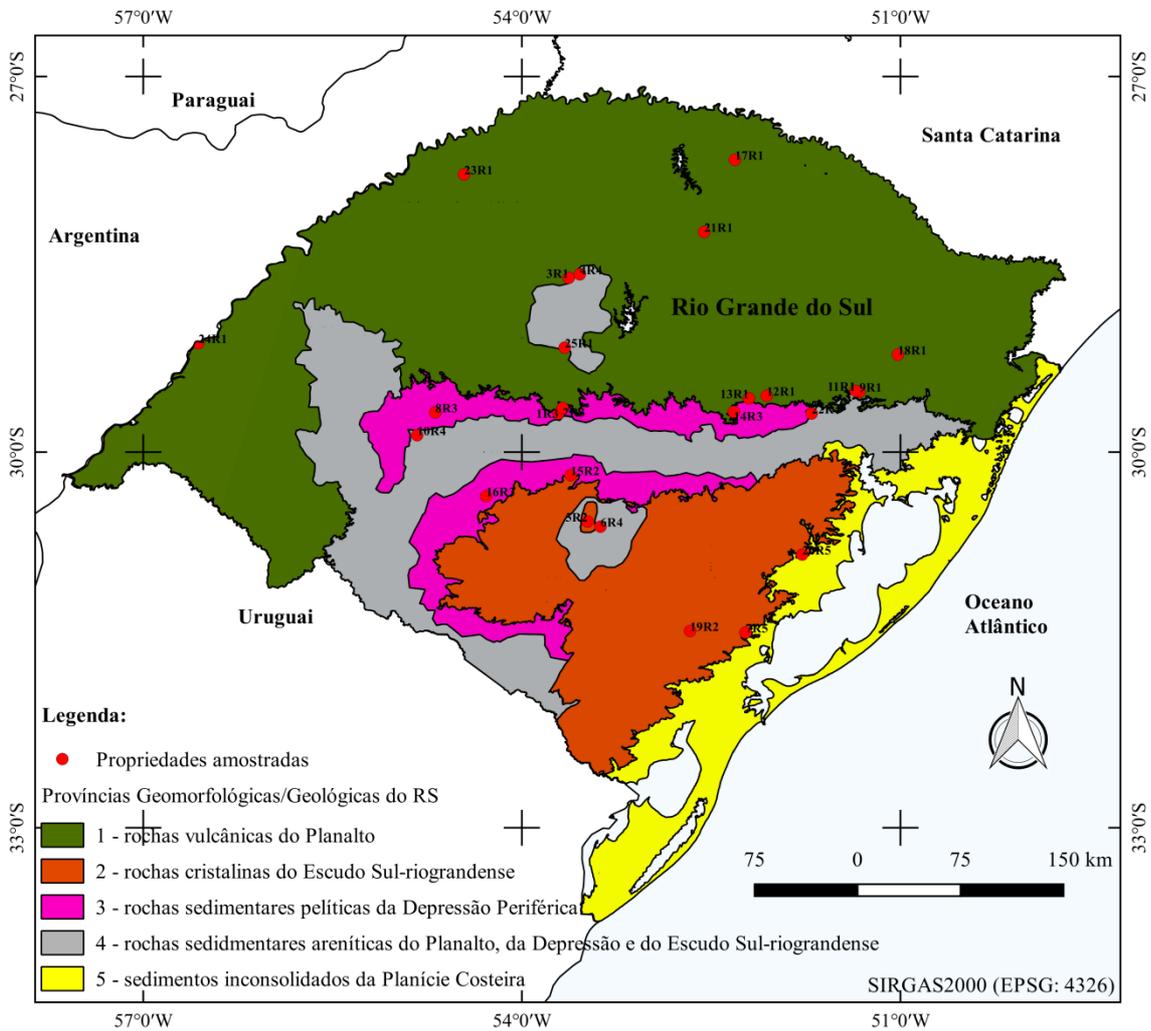
ZHANG, H. Z. et al. Accumulation characteristics of copper and cadmium in greenhouse vegetable soils In Tongzhou District of Beijing. **Procedia Environ Sci.**, v. 10, p.289–294, 2011.

Tabela 1 - Identificação das propriedades amostradas, municípios, classe de solos e coordenadas geográficas das 25 propriedades amostradas.

Identificação	Municípios	Classe de solo	Coordenadas geográficas
1R3	Santa Maria	Argissolo	29°41'27.67"S; 53°42'34.38"O
2R3	Santa Maria	Planossolo	29°38'51.81"S; 53°40'36.51"O
3R1	Cruz Alta	Latossolo	28°36'29.69"S; 53°37'43.50"O
4R4	Cruz Alta	Latossolo	28°34'49.23"S; 53°32'28.35"O
5R2	Caçapava do Sul	Neossolo	30°33'18.41"S; 53°28'40.26"O
6R4	Caçapava do Sul	Planossolo	30°35'42.87"S; 53°22'39.61"O
7R5	Turuçu	Argissolo	31°26'27.23"S; 52°13'40.39"O
8R3	São Vicente do Sul	Argissolo	29°41'1.18"S; 54°41'12.78"O
9R1	Feliz	Chernossolo	29°31'3.96"S; 51°19'30.71"O
10R4	Cacequi	Argissolo	29°51'55.86"S; 54°49'47.29"O
11R1	Bom Princípio	Chernossolo	29°30'39.29"S; 51°21'21.17"O
12R1	Cruzeiro do Sul	Nitossolo	29°32'59.30"S; 52° 3'36.62"O
13R1	Venâncio Aires	Argissolo	29°34'14.05"S; 52°12'2.29"O
14R3	Santa Cruz do Sul	Argissolo	29°40'42.11"S; 52°19'16.01"O
15R2	São Sepé	Argissolo	30°11'4.21"S; 53°36'47.98"O
16R3	São Gabriel	Argissolo	30°21'7.08"S; 54°16'57.43"O
17R1	Erechim	Latossolo	27°39'56.73"S; 52°18'41.99"O
18R1	Caxias do Sul	Cambissolo	29°13'18.26"S; 51° 1'13.13"O
19R2	Canguçu	Neossolo	31°25'44.40"S; 52°40'3.07"O
20R5	Camaquã	Argissolo	30°49'6.77"S; 51°46'44.64"O
21R1	Passo Fundo	Latossolo	28°14'30.07"S; 52°33'20.33"O
22R4	Tabaí	Argissolo	29°41'31.80"S; 51°42'18.08"O
23R1	Santa Rosa	Latossolo	27°46'56.37"S; 54°27'29.19"O
24R1	Itaqui	Planossolo	29° 7'47.54"S; 56°33'48.01"O
25R1	Júlio de Castilhos	Argissolo	29° 9'54.77"S; 53°39'37.96"O

Na identificação o R seguido dos números (1, 2, 3, 4, 5), significa região geomorfológica na qual está inserida a propriedade. Vide Figura 1.

Figura 1 - Localização georeferenciada das propriedades amostradas de acordo com as cinco províncias geomorfológicas/geológicas constantes na Portaria FEPAM n.º 85 /2014.



Elaborado pelo autor. Fonte: Mapa Geológico, CRPM 2006. Adaptado de FEPAM, 2014.

Tabela 2- Caracterização dos teores de argila, matéria orgânica, pH em água, CTC pH7,0 e teores de Cu avaliadas em amostras referentes aos ambientes: campo nativo ou mata (CN); cultivo a campo aberto (CA) e cultivo protegido (CP) das quatro propriedades selecionadas para posterior determinação dos teores de Cu por CaCl₂, EDTA e EPA.

Ambiente	Argila	M.O	pH em água	CTC pH 7,0	Cu
	(g kg ⁻¹)		(1:1)		(mg dm ⁻³)
23R1					
CN	690	31	5,7	13,1	7,40
CA	790	22	5,5	11,5	10,38
CP	470	31	5,3	17,0	60,00
3R1					
CN	360	18	5,3	7,9	1,08
CA	600	24	4,8	10,1	11,32
CP	470	30	5,3	22,6	13,90
11R1					
CN	170	12	4,6	6,9	1,54
CA	140	17	6,3	6,0	7,47
CP	90	29	5,9	8,4	10,00
9R1					
CN	320	23	5,3	16,2	3,00
CA	200	17	7,2	14,6	2,67
CP	140	28	7,4	12,9	12,5

Tabela 3 - Contrastes ortogonais dos teores de Cu presentes no campo nativo ou mata (CN); área de cultivo de hortaliças a campo aberto (CA); área de cultivo de hortaliças sob cultivo protegido (CP) das quatro propriedades após extração por CaCl₂ (a), EDTA (b) e EPA.

Ambiente	23R1	3R1	11R1	9R1
Cu – CaCl ₂ (mg kg ⁻¹)				
Campo Nativo (CN)	0,14	0,34	0,60	0,76
Campo Aberto (CA)	0,18	0,55	0,73	0,93
Cultivo Protegido (CP)	0,57	0,64	0,85	0,99
Teste F contraste ortogonal				
CN x CA e CP	**	**	**	**
CN x CA	ns	**	**	**
CN x CP	**	**	**	**
CA x CP	**	ns	**	ns
Cu – EDTA (mg kg ⁻¹)				
Campo Nativo (CN)	18,65	1,79	2,06	7,81
Campo Aberto (CA)	21,70	18,23	10,67	10,88
Cultivo Protegido (CP)	105,41	18,72	12,42	11,66
Teste F contraste ortogonal				
CN x CA e CP	**	**	**	**
CN x CA	**	**	**	**
CN x CP	**	**	**	**
CA x CP	**	ns	**	ns
Cu – EPA (mg kg ⁻¹)				
Campo Nativo (CN)	110,12	18,97	10,90	22,57
Campo Aberto (CA)	116,17	116,80	21,33	28,10
Cultivo Protegido (CP)	260,23	117,60	22,70	31,60
Teste F contraste ortogonal				
CN x CA e CP	**	**	**	**
CN x CA	ns	**	**	**
CN x CP	**	**	**	**
CA x CP	**	ns	ns	**

** significativo ao nível de significância de 0,001. ns não significativo.

Figura 2 - Correlação entre teores médios de Cu-EPA e Cu-EDTA avaliadas em amostras de solo referentes aos ambientes: campo nativo ou mata (CN); cultivo a campo aberto (CA) e cultivo protegido (CP) das propriedades 23R1 e 3R1 (n= 6) (a) e das propriedades 11R1 e 9R1 (n= 6) (b). Linha pontilhada representa linha de referência.

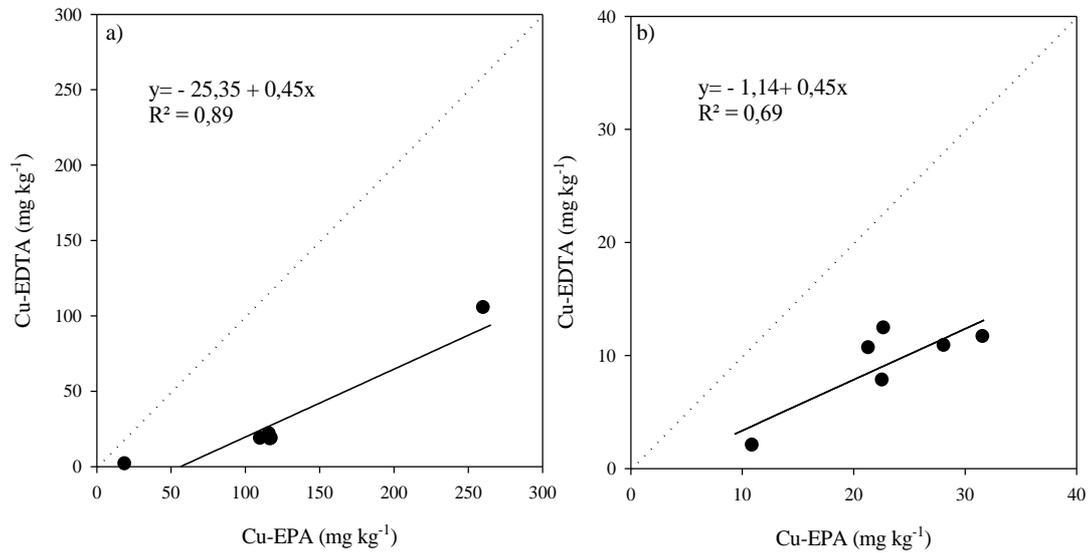


Tabela suplementar 1 - Propriedades químicas, físicas e mineralógicas avaliadas em amostras referentes ao ambiente cultivo protegido (C.P) das 25 propriedades amostradas e extrator/metodologia utilizada.

Determinação ⁽¹⁾	Extrator (método) ⁽²⁾
pH (água)	Relação solo:agua 1:1
Acidez total (H+Al)	Índice SMP
P disponível	Mehlich-1
K disponível	Mehlich-1
Na trocável	Mehlich-1
Ca trocável	KCl 1 mol L ⁻¹
Mg trocável	KCl 1 mol L ⁻¹
Al trocável	KCl 1 mol L ⁻¹
CTC _{efetiva}	Ca + Mg + K + Al
CTC _{pH 7,0}	Ca + Mg + K + Na + (H+Al)
Saturação alumínio trocável (m)	(Al/CTC _{efetiva})*100
Saturação de bases(V)	((Ca + Mg + K) / CTC _{pH 7,0})*100
Cu disponível	Mehlich-1/EAA-ICP
Zn disponível	Mehlich-1/EAA-ICP
S extraível	Ca (H ₂ PO ₄) (500 mg L ⁻¹ P)
B disponível	Água quente
Mátéria orgânica	Oxidação sulfocrômica/colorimetria
Teor de argila	Densimetria

¹ De acordo com os procedimentos descritos por Tedesco et al., 1995. ² Fonte: SBCS-NRS, 2016.

Tabela suplementar 2 - Identificação e municípios nos quais foram coletadas amostras e propriedades químicas, físicas e mineralógicas avaliadas em amostras referentes ao ambiente cultivo protegido (C.P) das 25 propriedades amostradas.

Id ¹ .	Municípios	pH água 1:1	Ca Mg Al H+Al				CTC efetiva	Saturação (%)		Índice SMP	%MO	% Argila	Textura	S	P ³ Mehlich	K	CTC _{pH7}	K	Cu	Zn	B
			cmol dm ⁻³					Al	Bases												
1R3	Santa Maria	6,2	7,6	2,3	0,0	2,2	10,7	0,0	83,0	6,6	3,5	14,0	4	18,9	449,8	0,8	12,9	332	9,3	9,3	0,8
2R3	Santa Maria	6,5	11,1	2,6	0,0	2,2	15,1	0,0	87,4	6,6	3,1	14,0	4	16,9	449,8	1,4	17,3	540	3,4	15,1	0,7
3R1	Cruz Alta	5,3	5,4	2,8	0,1	13,7	9,0	1,1	39,6	5,0	3,0	47,0	2	13,3	304,0	0,8	22,6	304	13,9	3,2	0,8
4R4 ²	Cruz Alta	7,1	10,1	3,6	0,0	0,4	14,4	0,0	97,3	8,0	3,3	19,0	4	14,4	449,8	0,7	14,8	260	3,8	7,0	0,7
5R2	Caçapava do Sul	6,3	8,9	2,5	0,0	1,0	12,0	0,0	92,1	7,3	3,2	17,0	4	12,5	449,8	0,6	13,0	248	7,1	16,5	0,8
6R4	Caçapava do Sul	6,6	15,4	7,2	0,0	2,2	23,0	0,0	91,2	6,6	3,4	24,0	3	13,4	147,7	0,4	25,2	140	1,0	5,0	0,7
7R5	Turuçu	4,8	2,1	0,7	0,5	1,7	3,5	14,3	63,9	6,8	2,8	16,0	4	10,0	202,4	0,1	4,7	56	1,0	2,6	0,7
8R3	São Vic. do Sul	6,6	7,9	2,9	0,0	5,5	11,3	0,0	67,0	5,8	3,3	14,0	4	14,8	101,8	0,5	16,8	180	0,2	0,9	0,7
9R1	Feliz	7,4	6,3	3,2	0,0	2,0	10,9	0,0	84,9	6,7	2,8	14,0	4	21,4	449,8	1,4	12,9	552	12,5	17,7	0,8
10R4	Cacequi	5,4	6,8	3,9	0,1	0,8	12,2	0,8	93,5	7,5	4,0	9,0	4	22,0	449,8	1,4	12,9	548	1,3	13,7	0,8
11R1	Bom Princípio	5,9	3,0	1,1	0,0	3,9	4,5	0,0	53,2	6,1	2,9	9,0	4	11,3	449,8	0,3	8,4	128	10,0	12,2	0,6
12R1	Cruzeiro do Sul	7,2	12,9	2,7	0,0	2,0	16,9	0,0	89,6	6,7	2,9	36,0	3	8,4	326,4	1,3	18,9	520	6,5	7,8	0,7
13R1	Venâncio Aires	6,7	14,8	6,0	0,0	1,4	22,9	0,0	94,1	7,0	4,0	32,0	3	13,6	500,0	2,0	24,3	800	7,7	16,8	0,8
14R3	S. Cruz do Sul	6,7	11,7	2,1	0,0	2,2	14,4	0,0	86,5	6,6	3,4	14,0	4	10,5	500,0	0,6	16,6	228	1,4	5,2	1,9
15R2	São Sepé	5,5	4,3	1,7	0,0	1,6	6,9	0,0	81,2	6,9	3,1	16,0	4	10,7	326,4	1,0	8,5	404	3,3	12,1	1,3
16R3	São Gabriel	5,9	7,5	2,5	0,0	4,4	10,6	0,0	70,8	6,0	3,4	18,0	4	16,8	370,3	0,6	15,0	240	2,8	15,9	0,8
17R1	Erechim	6,4	14,7	5,8	0,0	2,5	22,6	0,0	89,9	6,5	3,7	29,0	3	17,7	500,0	2,0	25,1	800	8,5	43,1	0,7
18R1	Caxias do Sul	4,9	9,3	3,2	0,3	2,2	14,6	2,1	86,7	6,6	3,9	14,0	4	15,1	359,2	1,9	16,5	728	8,2	30,6	0,8
19R2	Canguçu	5,9	6,4	2,5	0,0	8,7	10,0	0,0	53,4	5,4	3,4	24,0	3	18,4	420,5	1,1	18,7	424	1,1	7,1	0,7
20R5	Camaquã	4,8	5,1	0,9	0,2	2,2	6,6	3,0	74,1	6,6	2,9	19,0	4	15,5	449,8	0,4	8,6	160	2,6	9,5	0,8
21R1	Passo Fundo	6,0	11,5	3,9	0,0	6,2	16,2	0,0	72,2	5,7	3,4	30,0	3	12,5	500,0	0,7	22,4	284	8,2	41,8	0,7
22R4	Tabaí	6,1	10,4	3,7	0,0	2,5	16,0	0,0	86,3	6,5	3,7	9,0	4	8,8	500,0	1,9	18,5	732	3,3	51,4	0,7
23R1	Santa Rosa	5,3	7,9	1,7	0,2	6,2	11,0	1,8	63,7	5,7	3,1	47,0	2	9,3	309,0	1,2	17,0	488	60,0	32,6	0,8
24R1	Itaqui	6,1	8,8	3,6	0,0	2,0	13,6	0,0	87,0	6,7	3,6	14,0	4	12,8	500,0	1,2	15,6	460	2,1	31,3	0,8
25R1	J. de Castilhos	5,6	8,3	2,3	0,0	4,9	12,1	0,0	71,0	5,9	2,9	29,0	3	14,0	449,8	1,4	17,0	560	6,4	33,1	0,8

¹Id.= identificação (nº sequencial, seguido da respectiva região, R1, R2, R3, R4, R5); ²Propriedade com certificação orgânica por auditoria; ³ A critério do laboratório a geralmente a determinação dos teores de P é encerrada no momento que superar 450 mg dm⁻³.

ESTUDO 2 - IMPACTO DE CONCENTRAÇÕES DE COBRE NA SOLUÇÃO NUTRITIVA SOBRE PARÂMETROS MORFOLÓGICOS E FISIOLÓGICOS EM PLANTAS DE BETERRABA E REPOLHO, E O RISCO POTENCIAL DA SUA INGESTÃO À SAÚDE HUMANA

RESUMO

O excesso de cobre (Cu) no tecido de hortaliças pode causar toxidez e representar um risco a saúde do consumidor, o que não é suficientemente conhecido na literatura mundial. O estudo objetivou avaliar o efeito de concentrações de Cu na solução nutritiva sobre parâmetros morfológicos e fisiológicos em plantas de beterraba e repolho, e o risco potencial da sua ingestão à saúde humana. Plantas de beterraba e repolho foram cultivadas durante 90 dias em vasos com areia e fertirrigadas com solução nutritiva contendo cinco concentrações de Cu na solução nutritiva (0,02; 0,27; 0,52; 0,77 e 1,02 mg Cu L⁻¹). O crescimento das plantas, parâmetros fisiológicos e bioquímicos relacionados à fotossíntese e às respostas antioxidantes foram avaliados em folhas e os teores e o acúmulo de Cu nos órgãos de ambas as espécies. A média diária de ingestão de Cu (MDI_{Cu}) e o quociente de risco (QR) associado ao consumo da raiz tuberosa da beterraba e do repolho foram estimados. O aumento do Cu em solução reduziu o crescimento da beterraba e aumentou as concentrações e o acúmulo de Cu em órgãos de beterraba e repolho, os quais aumentaram a MDI_{Cu} e o QR. Isto evidencia possíveis riscos a saúde humana a partir do consumo *in natura* de raízes tuberosas de beterraba e de repolho, sendo esses proporcionais ao seu consumo diário.

Palavras chaves: *Beta vulgaris* L.; *Brassica oleracea* var. capitata; metais pesados; fitotoxidez; hortaliças; segurança alimentar.

ABSTRACT

Vegetables may exhibit excessive accumulation of nutrients, such as copper (Cu), which may cause toxicity to plants and potentialize the risk of its excessive introduction into the human diet, which is not well known in the world literature. The objective of this research was to evaluate the effect of Cu concentrations in nutrient solution on morphological and physiological parameters of beet and cabbage plants and the potential health risk of their consumption. Beet and cabbage plants were grown for 90 days in sand pots fertigated with

nutrient solutions containing five concentrations of Cu (0.02, 0.27, 0.52, 0.77 and 1.02 mg Cu L⁻¹). Plant growth, physiological and biochemical parameters related to photosynthesis and antioxidant processes in leaves and Cu content and accumulation in plant organs of both species were determined. The average daily intake of Cu (MDICu) and the risk quotient (QR) associated with the consumption of beet taproots and cabbage were also determined. The increase of Cu in the nutrient solution reduced beet growth and increased Cu content and its accumulation in beet and cabbage tissues, increasing MDICu and QR. It was concluded that the *in natura* consumption of beet taproots and cabbage can face risks to human health, which are proportional to their daily intake.

Keywords: *Beta vulgaris* L; *Brassica oleracea* var. capitata; heavy metal; toxicity; vegetables; food security

1 INTRODUÇÃO

Uma dieta que contemple o consumo de hortaliças é essencial para a saúde humana, por serem fontes de fibras, vitaminas, minerais e antioxidantes. Por outro lado, para que as hortaliças manifestem os efeitos benéficos a elas atribuídos, precisam ser livres de agentes tóxicos aos seres humanos (SLAVIN; LLOYD, 2012). Atualmente, fertilizantes químicos e orgânicos são aplicados em cultivos de hortaliças em solos, substratos e hidroponia (WUANA; OKIEIMEN, 2011; SONG et al., 2017; LU; TIAN, 2017), expondo as plantas a elevadas concentrações de elementos químicos, com os metais pesados, entre eles, o cobre (Cu).

As adições continuadas e excessivas de Cu em sistemas intensivos de cultivos podem expor as plantas a altas concentrações de Cu na solução de cultivo, elevando a absorção e o acúmulo do metal nas plantas, comprometendo a produtividade das culturas e a qualidade dos alimentos, além de colocar em risco a saúde de seus consumidores (GUERRA et al., 2012; KACHOLI e SAHU, 2018; GEBREYOHANNES e GEBREKIDAN, 2018). A toxidez de Cu em plantas normalmente acontece quando a concentração foliar deste metal é superior a 20 mg Cu kg⁻¹ de massa seca (KABATA-PENDIAS, 2011; MARSCHNER, 2012). No entanto, devido as distintas capacidades de absorção e translocação, as espécies diferem quanto às concentrações de Cu em órgãos (CUI et al., 2015; PAN et al., 2016), o que também é observado entre hortaliças folhosas e produtoras de raízes/caules e as hortaliças frutíferas (HU et al., 2017; DING et al., 2018). Em uma mesma planta ocorrem diferentes concentrações de

Cu entre os órgãos, podendo a sua concentração atingir níveis tóxicos em algum órgão e não em outros (JOLLY et al., 2013; ADREES et al., 2015).

O excesso de Cu nos tecidos das plantas pode ocasionar danos oxidativos e degeneração de componentes celulares, os quais são resultantes de desequilíbrios entre a reação antioxidante e o aumento na geração de espécies reativas de oxigênio (EROs) nas plantas (GIROTTO et al., 2013). Esses efeitos negativos do excesso do metal são variáveis de acordo com a concentração no órgão da planta e os mecanismos de tolerância da espécie vegetal, podendo alterar parâmetros morfológicos, bioquímicos e fisiológicos (MATEOS-NARANJO et al., 2013). Em plantas de beterraba expostas a elevadas concentrações de Cu no meio de crescimento do sistema radicular foram observadas diminuições no crescimento de raízes e folhas e aumento dos níveis de peroxidação lipídica (MORALES et al., 2012). Da mesma forma, plantas de repolho expostas a concentrações de Cu consideradas fitotóxicas podem apresentar redução no conteúdo de pigmentos fotossintéticos e na atividade fotossintética (ALI et al., 2015).

Além dos distúrbios fisiológicos e bioquímicos ocasionados pelo excesso de Cu em hortaliças, as elevadas concentrações de Cu em tecidos utilizados para alimentação humana predis põem seus consumidores à ingestão excessiva deste metal. O consumo de hortaliças é considerado a principal fonte de exposição humana a metais pesados, podendo ser responsável por 90% da ingestão total (MARTORELL et al., 2011; REHMAN et al., 2017). Desta forma, pode-se exceder os valores de referência dietética diária, recomendados por agências de regulamentação e avaliação de riscos a saúde humana como a European Food Safety Authority (EFSA), U.S. Department of Health and Human Services e a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA-Brasil). Essa ingestão excessiva de Cu pode causar distúrbios gastrointestinais, cardiovasculares, respiratórios e neurológicos em seres humanos (ADAMS e KEEN, 2005; MENDOZA et al., 2017). Diante disso, algumas metodologias como o Hazard Quocient (HQ) e Average Daily Intake (ADI) ou Recommended Dietary Allowance (RDA) têm sido amplamente empregadas em estudos de riscos relacionados à alimentação humana e permitem estimar o grau de risco ao consumidor de hortaliças quanto à presença de contaminantes (YANG et al., 2017; KACHOLI e SAHU, 2018). Atualmente, alguns estudos tem relatado a existência de riscos à saúde pelo consumo de hortaliças cultivadas em solos com alta concentração de metais pesados ou quando é utilizada água para irrigação com altos teores de metais pesados (KHAN et al., 2015; BALKHAIR e ASHRAF, 2016; YANG et al., 2017; KACHOLI e SAHU, 2018; GEBREYOHANNES e GEBREKIDAN, 2018).

Em geral em estudos realizados com plantas cultivadas sob diferentes concentrações de Cu, em soluções nutritivas, as avaliações dos parâmetros morfológicos, fisiológicos e bioquímicos são realizadas após curtos períodos de exposição das plantas ao metal (dias ou horas) (VINIT-DUNAND et al., 2002; ISERI et al., 2011; KULIKOVA et al., 2011; ALI et al., 2015). Além disso, são escassos os estudos internacionais que avaliam os possíveis riscos a saúde humana e suas associações ao consumo de determinadas partes de hortaliças que tenham acumulado elevados teores de Cu em seus tecidos. Desta forma, torna-se necessário conhecer a distribuição e a concentração do Cu nos órgãos, especialmente naqueles consumidos na alimentação humana, e, com isso, estimar a ingestão de Cu pelos consumidores de hortaliças e o risco potencial a saúde desses consumidores. Em cultivos realizados no solo, a concentração do metal disponível às plantas na solução do solo é difícil de ser controlada devido às interações com os componentes minerais e orgânicos e também pelas variações no teor de água. Por isso, a condução de pesquisas em sistema sem solo e com solução nutritiva é mais adequada para a determinação de relações entre a concentração de Cu no meio radicular, a absorção e acumulação nos tecidos das plantas.

O estudo objetivou avaliar o efeito de concentrações de Cu na solução nutritiva sobre parâmetros morfológicos e fisiológicos em plantas de beterraba e repolho, e o risco potencial da sua ingestão à saúde humana.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 DESCRIÇÃO DO EXPERIMENTO

O experimento foi realizado no período de 12 de março a 09 de junho de 2015, na Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), em Santa Maria, região Sul do Brasil (29°43'24.24"S e 53°43'12.36"W). Os cultivos foram realizados no interior de um abrigo de 200 m², tipo guarda-chuva, com 65% de superfície de ventilação, coberto com polietileno aditivado anti-UV de 200 µm de espessura e com 80% de transmissividade. A temperatura média do ar e a umidade relativa do ar no ambiente de cultivo foram obtidas por meio de dois registradores eletrônicos (NOVUS, LogBox-RHT-LCD, Brasil), instalados sobre as plantas, sendo o valores obtidos apresentados na Figura 1. O sistema de cultivo foi constituído por vasos de polietileno com volume de 2,5 dm³, preenchidos com areia de granulometria entre 1 e 3 mm e capacidade máxima de retenção de água de 0,238 L dm⁻³. Os vasos foram dispostos

sobre bancadas a 0,80 m de altura do solo, com 1,10 m de largura e 4 m de comprimento, distribuídos em cinco fileiras de plantas de beterraba e três de repolho.

Mudas de beterraba (*Beta vulgaris* L. cultivar Katrina) e de repolho (*Brassica oleracea* var. capitata cultivar Fuyutoyio) foram produzidas em bandejas de poliestireno de 200 alvéolos, contendo 16 cm³ por alvéolo do substrato granulado a base de fibra de coco (Golden Mix[®]). Uma planta de beterraba e uma de repolho foram transplantadas em cada vaso e cultivadas concomitantemente. Os vasos com as plantas de beterraba foram organizados com espaçamento de 0,3 m na fileira e 0,27 m entre fileiras, totalizando 12 vasos por metro quadrado. Os vasos com plantas de repolho foram organizados com 0,6 m de distância na fileira e 0,27 m entre fileiras, totalizando 6 vasos por metro quadrado. As bancadas foram constituídas por telhas de fibrocimento revestidas com lona de polipropileno.

Durante o período experimental a água e os nutrientes foram fornecidos por fertirrigação, através de fita gotejadora, com um gotejador por vaso. A solução nutritiva foi preparada e armazenada em caixas de polipropileno de 500 L e fornecida às plantas através de uma motobomba controlada por um programador horário. Com base na transpiração potencial de hortaliças cultivadas no local (TAZZO et al., 2012) e no coeficiente de drenagem de 30%, foram realizadas três fertirrigações diariamente. Cada fertirrigação foi realizada durante 15 minutos, totalizando 1.550 mL por vaso a cada dia. O volume de solução nutritiva drenado retornou à caixa de estocagem da solução nutritiva e foi reutilizado, em sistema fechado.

A composição química da água empregada na elaboração das soluções nutritivas não detectou a presença de Cu até o limite de 0,04 mg L⁻¹ (Standard Methods 3111 B). A solução nutritiva usada nas fertirrigações possuía a seguinte composição (mmol L⁻¹): 12,24 de NO₃⁻; 3,0 de NH₄⁺; 2,5 de H₂PO₄⁻; 6,5 de K⁺; 2,62 de Ca⁺²; e 2,0 de Mg⁺². As concentrações dos micronutrientes, com exceção do Cu, foram (mg L⁻¹): 0,03 de Mo; 0,26 de B; 0,50 de Mn; 0,22 de Zn, fornecidos por meio de uma solução estoque. A concentração de Fe foi de 1,0 mg L⁻¹, fornecido separadamente, na forma quelatizada (EDDHA). Essa solução nutritiva apresentou condutividade elétrica (CE) igual a 1,5 dS m⁻¹ e pH de 5,8. As fontes de macronutrientes foram os fertilizantes nitrato de potássio (KNO₃), monoamôniofosfato (NH₄H₂PO₄), nitrato de cálcio-Calcinit[®] (Ca(NO₃)₂) e sulfato de magnésio (MgSO₄).

O delineamento experimental usado nos cultivos foi inteiramente casualizado, com cinco repetições. Os tratamentos, em ambas as culturas, foram cinco concentrações de Cu adicionadas na solução nutritiva: 0,02; 0,27; 0,52; 0,77 e 1,02 mg Cu L⁻¹. A fonte de Cu usada foi sulfato de Cu pentahidratado (CuSO₄.5H₂O) (25% Cu). A condutividade elétrica (CE) e o pH da solução nutritiva foram medidos diariamente. Sempre que o valor medido da CE

apresentava desvio de 5% em relação ao valor de referência ($1,5 \text{ dS m}^{-1}$) foram feitas correções adicionando-se água ou alíquotas de nova solução nutritiva nas concentrações de referência. O pH foi mantido entre os limites de 5,5 e 6,0, mediante adição de NaOH para aumentar o valor do pH e de H_2SO_4 para reduzir o valor do pH, nas concentrações de 1 mol L^{-1} e $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente.

2.2 PARÂMETROS FISIOLÓGICOS E PIGMENTOS FOTOSSINTÉTICOS

Aos 55 dias após o transplante (DAT) foram avaliados os parâmetros fisiológicos na terceira folha completamente expandida em cinco plantas por tratamento. As avaliações foram realizadas no período entre 08 e 11:00h, com a utilização do medidor portátil Infra Red Gas Analyzer (IRGA), (LI-COR; LI-6400XT; EUA), utilizando uma radiação fotossinteticamente ativa de $1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ e concentração de CO_2 de $400 \mu\text{mol mol}^{-1}$. Foram determinadas a taxa fotossintética (A), condutância estomática de vapores de água (Gs), a concentração interna de CO_2 (Ci), taxa transpiratória (E), a eficiência do uso da água (EUA), obtida pela relação entre quantidade de CO_2 fixado pela fotossíntese e quantidade de água transpirada, e a eficiência instantânea de carboxilação pela rubisco (A/Ci).

Aos 78 DAT foram coletadas três folhas das plantas de beterraba e repolho em cada uma das três plantas amostradas aleatoriamente em cada tratamento, sendo as três folhas recém expandidas com área foliar similar às folhas mais velhas nas plantas de beterraba e três folhas do terço médio, que não constituíam a cabeça, nas plantas de repolho. As folhas coletadas foram imediatamente acondicionadas em N_2 líquido e armazenadas a -80°C em ultra-freezer (Indrel, RVV 880D, Brasil). A extração de clorofila *a*, clorofila *b* e carotenoides foi realizada em 0,05 g de limbo foliar, seguindo metodologia proposta por Hiscox e Israelslam (1979). A absorbância do extrato obtido foi determinada a 663, 645 e 470 nm, para a clorofila *a*, clorofila *b* e carotenoides, respectivamente, usando espectrofotômetro (FEMTO, Espectrofotômetro 800 XI, Brasil). O teor dos pigmentos fotossintéticos foi calculado de acordo com a metodologia proposta por Lichtenthaler (1987). A partir dos teores dos pigmentos fotossintéticos foram calculadas a clorofila total (clorofila *a* + clorofila *b*) e as relações clorofila *a*/clorofila *b* e carotenoides/clorofila total.

2.3 ANÁLISES BIOQUÍMICAS

A concentração de malondialdeído (MDA), substância reativa ao ácido tiobartúrico (TBARS) foi determinada indiretamente, através do nível de peroxidação lipídica pelo método descrito por El-Moshaty et al. (1993), com posterior determinação a 532 e 600 nm em espectrofotômetro (FEMTO, Espectrofotômetro 800 XI, Brasil). Para a determinação das enzimas superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1) e peroxidases (POD, EC 1.11.1.7), obteve-se o extrato enzimático a partir de 0,5 g de tecido foliar fresco, macerado com N₂ líquido e homogeneizado com 3,0 mL de tampão fosfato de sódio (TFNa) 50 mM (pH 7,8), contendo EDTA 1,0 mM, e 0,5% (v/v). O extrato foi centrifugado a 13000 g por 20 minutos a 4 °C e o sobrenadante foi coletado (ZHU et al., 2004). Alíquotas de 0,5 mL foram estocadas em freezer a -80°C até o momento da quantificação das enzimas. A atividade da enzima SOD foi determinada de acordo com o método espectrofotométrico, descrito por Giannopolitis e Ries (1977). Já a atividade da enzima POD presente no extrato foi determinada segundo Zeraik et al. (2008), enquanto a concentração de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) foi determinada de acordo com o método descrito por Loreto e Velikova (2001).

2.4 PRODUÇÃO DE MASSA FRESCA E SECA

Aos 90 DAT foram coletadas plantas de cinco vasos de beterraba e repolho em cada um dos tratamentos. Inicialmente foi coletada a parte aérea de cada planta e pesada usando balança com 0,01 g de precisão (Shimadzu, BL 3200H, Brasil), para a determinação de massa fresca da parte aérea (MFPA) e massa fresca da raiz tuberosa (MFRT) nas plantas de beterraba e a massa fresca de cabeça (MFCA) nas plantas de repolho. As plantas coletadas foram fracionadas em diferentes partes sendo a beterraba dividida em folhas, pecíolos, raiz tuberosa e raízes, e o repolho em folhas, cabeça, caule e raízes. Após a secagem em estufa de circulação forçada de ar a ±65°C, até atingir massa constante, foi determinada a massa seca para cada um desses órgãos, por meio da pesagem em balança com precisão de 0,001g (Marconi, MABL500C, Brasil), obtendo-se a massa seca de folhas (MSFolhas), pecíolos (MSPecíolos), raiz tuberosa (MSRT) e raízes (MSRaízes) das plantas de beterraba e das folhas que não formaram cabeça (MSFolha), folhas da cabeça (MSCA), caule (MSCaule) e raízes (MSRaízes) das plantas de repolho. A massa seca total da parte aérea (MSPA) de ambas as culturas foi determinada por meio da soma das massas secas (MS) dos órgãos correspondentes.

2.5 CONCENTRAÇÃO DE COBRE E COBRE ACUMULADO NO TECIDO

Após a secagem os órgãos das plantas foram moídos em moinho do tipo Willey, passados em peneira com malha de 20 mesh e submetidos à digestão nitroperclórica (Embrapa, 2009). No extrato obtido foi determinada a concentração de Cu, em espectrofotômetro de absorção atômica (Perkin Elmer, Aanalyst 200, EUA). Posteriormente, foi calculado o Cu acumulado em cada órgão e o total acumulado por planta.

2.6 INGESTÃO DIÁRIA DE COBRE (MID_{Cu}) E QUOCIENTE DE RISCO (QR)

A média da ingestão diária de Cu (MID_{Cu}) foi calculada para a raiz tuberosa na beterraba e cabeça no repolho, como um produto do consumo médio diário de vegetais por pessoa, percentual de massa seca do tecido e concentração média de Cu na MS conforme a equação 1 (adaptado de USEPA, 1997):

$$MID_{Cu} = MC_d \times \% MS_t \times [Cu]_t \quad \text{Equação 1}$$

Onde: MID_{Cu} é a ingestão média diária de Cu ($mg \text{ pessoa}^{-1} \text{ dia}^{-1}$); MC_d é o consumo médio diário de hortaliças ($kg \text{ pessoa}^{-1} \text{ dia}^{-1}$); $\% MS_t$ é a porcentagem de massa seca do tecido ($\% MS_t = (\text{Massa seca tecido} / \text{Massa Fresca tecido})$); e $[Cu]_t$ é a concentração de Cu na MS do tecido ($mg \text{ Cu} \text{ kg}^{-1} \text{ MS}$). A MC_d empregada foi de $0,05 \text{ kg} \text{ dia}^{-1}$, que se aproxima da ingestão diária per capita de hortaliças no Brasil (IBGE 2011; CANELLA et al., 2018).

Os níveis de risco associados ao consumo das raízes tuberosas de beterraba e cabeças de repolho foram avaliados usando o quociente de risco (adaptado de USEPA, 1989):

$$QR = (MC_d \times [Cu]_t) / (D_{OR} \times M_C) \quad \text{Equação 2}$$

onde: MC_d é consumo médio diário de hortaliças ($kg \text{ pessoa}^{-1} \text{ dia}^{-1}$); $[Cu]_t$ é concentração de Cu na MS do tecido ($mg \text{ Cu} \text{ kg}^{-1} \text{ MS}$); D_{OR} é a dose oral de referência de Cu ($mg \text{ Cu} \text{ kg}^{-1}$ de massa corporal dia^{-1}); e M_C é a massa corporal (kg). A MC_d empregada foi de $0,05 \text{ kg} \text{ dia}$, que representa, aproximadamente, a ingestão per capita diária de hortaliças no Brasil (IBGE, 2011; CANELLA et al., 2018). A D_{OR} utilizada foi de $0,04 \text{ mg} \text{ Cu} \text{ kg}^{-1}$ de massa corporal dia^{-1} (USEPA, 2015), enquanto a M_C considerada foi de 65 kg, que representa a massa corporal média aproximada de adultos no Brasil (IBGE, 2011).

2.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A pressuposição de normalidade dos dados foi testada e encontrada por meio do Teste de Kolmogorov-Smirnov e, posteriormente, foi realizada a análise da variância. Quando os efeitos dos tratamentos foram significativos ($p \leq 0,05$), equações de regressão foram ajustadas testando-se os modelos linear e quadrático pelo teste F, escolhendo-se aquele com significância maior que 95%, por meio do software ASSISTAT versão 7.7. Quando não foi observada diferença significativa entre as médias obtidas para cada tratamento, foi calculado e apresentado o valor médio da variável analisada.

3 RESULTADOS

3.1 PARÂMETROS DE CRESCIMENTO DAS PLANTAS

As variáveis de crescimento massa fresca da parte aérea (MFPA) e raiz tuberosa (MFRT), massa seca da parte aérea (MSPA), folhas (MSFolhas), pecíolos (MSPecíolos), raiz tuberosa (MSRT) e raízes (MSRaízes) da beterraba, diminuíram linearmente com o aumento das concentrações de Cu na solução nutritiva (Tabela 1). As maiores produções de massa fresca e seca dessas variáveis foram observadas no tratamento com a adição da menor dose de Cu ($0,02 \text{ mg L}^{-1}$), enquanto a menor produção foi observada nas plantas cultivadas na maior concentração de Cu ($1,02 \text{ mg Cu L}^{-1}$) (Figura 2a, b, c). A redução na produção de massa entre estes tratamentos foi de 52,69; 54,34; 51,25; 55,17; 43,84; 49,62 e 68,55% para as variáveis MFPA, MFRT, MSPA, MSFolhas, MSPecíolos, MSRT e MSRaízes, respectivamente. Por outro lado, a relação parte aérea e raízes, calculada a partir da razão entre a produção de matéria seca da parte aérea (MSFolhas + MSPecíolos) e a produção de massa seca das raízes (MSRT + MSRaiz) não foi afetada quando comparados os valores obtidos entre as concentrações de $0,02$ e $1,02 \text{ mg Cu L}^{-1}$.

Nas plantas de repolho, a massa fresca da cabeça (MFCA) diminuiu linearmente com o aumento das doses de Cu, sendo esta redução de 24,80% no tratamento com a maior concentração de Cu na solução nutritiva, em relação ao tratamento com menor concentração (Figura 3a). As demais variáveis de crescimento avaliadas não diferiram estatisticamente com o aumento da concentração de Cu na solução nutritiva (Tabela 2).

3.2 CONCENTRAÇÃO E ACÚMULO DE COBRE NOS ÓRGÃOS

As concentrações de Cu presentes na MSFolhas, MSPecíolos, MSRT e MSRaízes das plantas de beterraba aumentaram com o aumento das concentrações de Cu na solução nutritiva (Tabela 1; Figuras 2 d, e). Nas plantas de beterraba, as concentrações máximas de Cu nas folhas, pecíolos e raízes tuberosas foram de 62,86; 27,62; e 50,84 mg Cu kg⁻¹ MS, obtidas na maior concentração de Cu na solução nutritiva (1,02 mg L⁻¹). Os aumentos percentuais nas concentrações de Cu observadas nas folhas, pecíolos e raiz tuberosa, quando comparadas essas concentrações máximas às concentrações mínimas de Cu nos tecidos, observados na menor concentração de Cu na solução nutritiva (0,02 mg Cu L⁻¹), corresponderam a 170, 93 e 128%, respectivamente. Nas raízes, a concentração máximo de Cu foi de 651,77 mg Cu kg⁻¹ MS, observada na concentração de 0,93 mg Cu L⁻¹ de solução nutritiva, representando um incremento de 616,54%, quando comparada à concentração observada na dose de 0,02 mg Cu L⁻¹ de solução nutritiva.

As concentrações de Cu na MSFolhas, MSCA, MSCaule e MSRaízes das plantas de repolho também aumentaram (Tabela 2; Figura 3 b, c), sendo as concentrações máximas de Cu nas folhas, cabeça, caule e raízes de 32,71; 25,54; 24,90 e 793,52 mg de Cu kg⁻¹ MS, obtidas nas concentrações de 1,02; 0,89; 0,87 e 1,00 mg Cu L⁻¹ de solução nutritiva, respectivamente. Quando essas concentrações foram comparadas às concentrações presentes na menor concentração testada (0,02 mg de Cu L⁻¹) os aumentos foram de 257, 108, 235 e 1344%, respectivamente.

O Cu acumulado nas folhas, pecíolos e raízes tuberosas das plantas de beterraba (Tabela 1) não diferiram estatisticamente com o aumento da concentração de Cu na solução nutritiva. No entanto, os conteúdos presentes nas raízes e o conteúdo total aumentaram de forma quadrática (Figura 2 f). Entre os tecidos das plantas de beterraba, as raízes apresentaram o maior acúmulo de Cu. Neste órgão, o maior acúmulo de Cu foi observado na concentração de 0,63 mg Cu L⁻¹, com conteúdo de 0,80 mg de Cu planta⁻¹. O acúmulo total de Cu nas plantas de beterraba também foi maior na concentração de 0,63 mg Cu L⁻¹, com 2,24 mg Cu planta⁻¹, enquanto o menor acúmulo total de Cu foi observado na concentração de 0,02 mg de Cu L⁻¹ de solução nutritiva, com 1,34 mg planta⁻¹. Nas concentrações de Cu na solução nutritiva maiores que o ponto de máxima ajustado, ocorreu diminuição do Cu acumulado, sendo esta redução de 17,2% na maior concentração de Cu na solução.

O Cu acumulado nos órgãos das plantas de repolho (Tabela 2; Figura 3 d, e) diferiu significativamente e aumentou de forma quadrática com o aumento das doses de Cu aplicadas

na solução nutritiva. Dentre os diferentes órgãos, as raízes apresentaram o maior conteúdo de Cu, sendo que o maior acúmulo foi de 8,22 mg Cu planta⁻¹, na concentração de 0,8 mg Cu L⁻¹. Nas folhas, cabeça e caule os conteúdos máximos foram observados nas concentrações de 1,02; 0,70 e 0,73 mg Cu L⁻¹, com 2,76; 1,46 e 0,49 mg Cu planta⁻¹, respectivamente. Estes acúmulos de Cu correspondem a um aumento respectivo de 237, 110, e 228%, quando comparados aos obtidos no tratamento com a menor adição de Cu na solução nutritiva. O maior acúmulo total de Cu ocorreu na concentração ajustada de 0,83 mg Cu L⁻¹, com 12,78 mg Cu planta⁻¹, o que correspondeu a um aumento no conteúdo de Cu de 338% em comparação ao observado na concentração 0,02 mg Cu L⁻¹ de solução nutritiva. Nós observamos diminuição no conteúdo total de Cu nas plantas cultivadas nos tratamentos com a adição de concentrações de Cu na solução nutritiva superiores ao ponto de máximo acúmulo ajustado, resultando em diminuição de 4,27%, quando comparado ao Cu acumulado na máxima concentração de Cu na solução nutritiva.

3.3 PARÂMETROS FISIOLÓGICOS E PIGMENTOS FOTOSSINTÉTICOS

A taxa fotossintética (A), condutância estomática de vapores de água (Gs), concentração interna de CO₂ (Ci), taxa transpiratória (E), eficiência do uso da água (EUA) e eficiência instantânea de carboxilação pela rubisco (A/Ci) avaliados nas plantas de beterraba e repolho não diferiram estatisticamente entre as concentrações de Cu aplicadas na solução nutritiva (Tabela 1; Tabela 2). Da mesma forma, os teores de pigmentos fotossintéticos e as relações de clorofila *a*/clorofila *b* e carotenóides/clorofila total avaliados nas folhas das plantas de beterraba e repolho, com exceção do teor de clorofila *b* nas folhas das plantas de repolho, não diferiram estatisticamente entre as concentrações de Cu aplicadas na solução nutritiva (Tabela 1; Tabela 2). O teor de clorofila *b* nas folhas das plantas de repolho apresentou resposta quadrática, com o maior valor ajustado de 0,42 mg g⁻¹ MF de folhas na concentração de 0,45 mg Cu L⁻¹ de solução nutritiva, enquanto o menor teor de clorofila *b* foi de 0,28 mg g⁻¹ MF de folhas, observado na concentração de 1,02 mg Cu L⁻¹ de solução nutritiva.

3.4 PARÂMETROS BIOQUÍMICOS

Os níveis de TBARs, as atividades das enzimas SOD e POD e a concentração de H₂O₂ avaliados nas folhas de beterraba não diferiram significativamente nas concentrações de Cu

testadas (Tabela 1). Da mesma forma, as atividades de enzimas SOD e POD nas folhas das plantas de repolho não diferiram em função das concentrações de Cu adicionadas à solução nutritiva (Tabela 2). Por outro lado, os níveis de TBARs reduziram linearmente de acordo com aumento das concentrações de Cu adicionados na solução nutritiva (Tabela 2). Os menores níveis de TBARs foram observados na maior concentração de Cu adicionado na solução nutritiva (1,02 mg Cu L⁻¹), com 0,659 mmol de MDA mg⁻¹ proteína resultando em uma diminuição de 45,49%, entre as concentrações mais baixa e mais alta. Já a concentração de H₂O₂ apresentou resposta quadrática, tendo seu ponto de mínimo ajustado na concentração de 0,45 mg Cu L⁻¹ com 0,33 μmol H₂O₂ g⁻¹ MF, enquanto a maior concentração de H₂O₂ foi observada nas folhas das plantas cultivadas na concentração de 1,02 mg Cu L⁻¹, sendo a mesma de 0,58 μmol H₂O₂ g⁻¹ MF.

3.5 ANÁLISE DO RISCO POTENCIAL AOS CONSUMIDORES

A média de ingestão diária (MID_{Cu}) calculada para a raiz tuberosa da beterraba aumentou quadraticamente com o aumento das concentrações de Cu de 0,02 para 1,02 mg Cu L⁻¹ na solução nutritiva (Figura 4 a). A menor e a maior MDI_{Cu} foram observadas nas concentrações extremas de 0,02 e 1,02 mg Cu L⁻¹ com 0,08 e 0,21 mg Cu pessoa⁻¹ dia⁻¹, respectivamente. A MID_{Cu} estimada a partir dos tecidos da cabeça de repolho aumentou linearmente com as concentrações de Cu na solução nutritiva, sendo a maior MID_{Cu} observada na concentração de 1,02 mg L⁻¹ com 0,07 mg Cu pessoa⁻¹ dia⁻¹ (Figura 4a).

O quociente de risco (QR) estimado para a raiz tuberosa da beterraba e para a cabeça do repolho aumentaram quadraticamente com o aumento da concentração de Cu em solução nutritiva (Figura 4b). O maior QR estimado para a raiz tuberosa foi 0,98 na concentração de 1,02 mg Cu L⁻¹ de solução nutritiva. Para os tecidos da cabeça do repolho, o QR máximo estimado foi de 0,48 observado na concentração 0,88 mg Cu L⁻¹.

4 DISCUSSÃO

A diminuição observada no crescimento das plantas de beterraba (MFPA, MSPA, MSFolhas e MSPecíolos) devido ao aumento das concentrações de Cu na solução nutritiva (Figuras 2a, 2b, 2c), pode ser atribuída a inibição da divisão e alongação celular causada pelo aumento da concentração de Cu nesses tecidos (DEY et al., 2014; TIECHER et al., 2018). Além disso, a redução do crescimento da parte aérea da beterraba pode estar associada à

diminuição do crescimento radicular, ocasionado pelo aumento do Cu em solução e seu contato direto com as raízes (LIU et al., 2014; SANCHEZ-PARDO et al., 2014; FLORES-CÁCERES et al., 2015). Nesses casos, a absorção de água e nutrientes é dificultada pelas altas concentrações de Cu na solução e no tecido radicular, o que contribui para reduzir o crescimento e desenvolvimento das plantas (MARSCHNER, 2012; AMBROSINI et al., 2015; CUBA-DÍAZ et al., 2017). Por outro lado, o fato das plantas de repolho não terem seu crescimento prejudicado pelas diferentes concentrações de Cu aplicadas na solução nutritiva pode estar associado à tolerância desta espécie às maiores concentrações de Cu e ao potencial de absorver e acumular altos teores deste elemento nas raízes, sem manifestar alterações no sistema radicular devido a sua rápida regeneração (RADULESCU et al., 2013).

As raízes das plantas desempenham papel importante na prevenção da translocação de teores excessivos de Cu para a parte aérea, especialmente para as folhas, onde ocasionam maiores danos às plantas, devido aos importantes processos fisiológicos que ocorrem neste órgão (CAMBROLLÉ et al., 2015). Apesar das plantas disporem de mecanismos e estratégias para evitar que os íons de Cu absorvidos alcancem a parte aérea em teores excessivos, os teores de Cu nas folhas de beterraba e repolho foram maiores que 20 mg Cu kg⁻¹, quando expostas a concentrações de Cu na solução nutritiva superiores a 0,02 e 0,36 mg L⁻¹, respectivamente. Esse teor foliar de Cu é referenciado como limitante ao crescimento de plantas sensíveis ao Cu (KABATA-PENDIAS, 2011). A presença do Cu em altos teores no tecido foliar pode afetar a função de transporte da membrana e dos canais iônicos, aumentando a permeabilidade não específica, devido a alterações das propriedades da membrana, o que induz desequilíbrios nutricionais (JANICKA-RUSSAK et al., 2008; CAMBROLLÉ et al., 2013; TIECHER et al., 2018). Tais desequilíbrios podem ocorrer devido às interações do Cu com grupos nitrogenados (N) das proteínas, ocasionando alterações na relação nitrato/sulfato nas folhas, conforme observado em plantas de couve chinesa (*Brassica perkinks*) cultivadas sob altas concentrações de Cu (SHAHBAZ et al., 2010).

O aumento das concentrações de Cu nas raízes das plantas de beterraba e repolho (Figura 2e; Figura 3c) possivelmente ocorreu porque parte do Cu pode ser armazenado no apoplasto, ligado a grupos carboxílicos presentes na parede celular que possuem elevada afinidade com o Cu, o que diminui a concentração no simplasto e restringe a quantidade de Cu transportada para outros tecidos (AMBROSINI et al., 2015; AMBROSINI et al., 2018; COMIN et al., 2018). Este acúmulo no sistema radicular também pode ser resultado da forte interação do Cu com os grupamentos sulfídricos de enzimas e proteínas do apoplasto das

células da raiz (YRUELA, 2005). Além disso, pode ocorrer um aumento na produção intracelular de ácidos orgânicos, como o citrato (MURPHY et al., 1999; KELLER et al., 2015), e fitoquelatinas que atuam no citosol, por meio da quelação dos íons metálicos. Posteriormente, os íons quelados são sequestrados e compartimentalizados no vacúolo, evitando maiores efeitos deletérios (JAN; PARRAY, 2016; TIECHER et al., 2018), sendo que a quelação é considerada o principal mecanismo de defesa aos elevados teores de metais pesados em Brassicaceas (MOURATO et al., 2015).

O fator de translocação (FT= teor de Cu nas folhas/teor de Cu nas raízes) obtido a partir das equações dos teores de Cu nos tecidos (Tabela 1; Tabela 2) no tratamento 0,02 mg Cu L⁻¹, demonstram que as plantas de beterraba apresentam uma translocação de Cu superior às plantas de repolho, com FT de 0,25 e 0,11, respectivamente. Os FTs reduziram drasticamente quando obtidos nas concentrações nas quais se verificou a maior concentração de Cu na raiz das plantas de beterraba e repolho, cujos FTs foram iguais a 0,09 e 0,04, respectivamente. Essas observações demonstram a existência de mecanismos de controle, que atuam na limitação do transporte de Cu para a parte aérea, principalmente para os tecidos das folhas, o que permite classificar ambas as culturas no grupo das não hiperacumuladoras de Cu (RASCIO; NAVARI-IZZO, 2011).

O total de Cu acumulado pelas plantas de beterraba e nas raízes foi influenciado pela diminuição do efeito de diluição do Cu devido à redução da produção de massa seca das plantas com o aumento das concentrações de Cu na solução e também pela limitação da translocação do Cu das raízes para os demais tecidos. O aumento do Cu acumulado nas raízes das plantas de beterraba, conforme foram aumentadas as concentrações de Cu na solução nutritiva, pode ser atribuído aos maiores teores de Cu nesse órgão, o que pode ser observado na comparação dos respectivos acumulados na solução de 0,02 mg Cu L⁻¹. Nas plantas de repolho, o maior acúmulo total de Cu foi observado na concentração de 0,83 mg Cu L⁻¹ de solução nutritiva, onde as raízes representam 64% do total acumulado, o que está relacionado aos maiores teores de Cu verificados nesse tecido, uma vez que a produção de massa seca não diminuiu com o aumento do Cu em solução (Tabela 2).

Apesar das concentrações de Cu nas folhas de beterraba de plantas expostas a concentrações maiores a 0,28 mg Cu L⁻¹ na solução nutritiva superarem 40 mg Cu kg⁻¹ MS, elas não ocasionaram alterações nos teores de pigmentos fotossintéticos. Por outro lado, nas folhas das plantas de repolho, observou-se um aumento da concentração de clorofila *b* com o aumento da concentração de Cu na solução nutritiva de 0,02 para 0,45 mg Cu L⁻¹, com uma posterior redução até a maior concentração de Cu aplicada na solução nutritiva. Tal fato pode

ter ocorrido porque as folhas coletadas nas plantas cultivadas nas menores concentrações de Cu eram relativamente velhas e estavam a passo de fazerem parte da cabeça. Isto pode aumentar a concentração de clorofila *b* nas folhas, pois essa é uma reação natural e adaptativa para expandir a faixa de comprimento de ondas luminosas absorvidas via cloroplastos de “sombra”, os quais compõem e atuam na captação de radiação no fotosistema II (KITAJIMA; HOGAN, 2003).

A inalteração dos parâmetros fisiológicos relacionados à fotossíntese (Tabela 1; Tabela 2), pode estar relacionada ao fato das concentrações de pigmentos fotossintéticos das plantas de beterraba e repolho, com excessão da clorofila *b* nas plantas de repolho, também não terem sido afetadas pelo aumento do Cu na solução nutritiva e nos tecidos foliares, uma vez que a taxa de fotossíntese está diretamente relacionada à concentração de clorofila nos cloroplastos (BAYLEY-SERRES et al., 2018; BASSI, MENOSSI, MATTIELLO, 2018). Contudo, nas maiores concentrações de Cu na solução nutritiva, a concentração de clorofila *b* no repolho foi diminuída devido ao estresse ocasionado pelo aumento do teor de Cu no tecido foliar (TIECHER et al., 2017), possivelmente devido a alguma limitação nutricional, como por exemplo do Mg, o qual é constituinte chave da clorofila *b* (KELLER et al., 2015).

A partir dos níveis de TBARs nas plantas de repolho, observou-se uma redução na concentração de MDA, que é o produto resultante da peroxidação lipídica. Isso indica que o aumento da concentração de Cu na solução nutritiva ocasionou a redução da peroxidação lipídica, o que pode ser resultado da expressão de genes de resistência (EMAMVERDIAN et al., 2015). Este resultado é acompanhado pela redução parcial da concentração de H₂O₂ nas concentrações ajustadas de 0,02 a 0,45 mg Cu L⁻¹. Essa redução pode estar relacionada a atuação de outros sistemas de proteção e desintoxicação do Cu nas folhas, como a quelação (WANG et al., 2004; ISERI et al., 2011). Possivelmente, em uma exposição das plantas de repolho a concentrações superiores às testadas, a concentração de Cu no tecido foliar será aumentada e, com isso, a atuação de enzimas antioxidantes sejam expressas, atuando no controle de níveis de espécies reativas de oxigênio (EROs) gerados a partir do estresse ocasionado pelo excesso de Cu (POSMYK et al., 2009; KUMCHAI et al., 2013). Isso ocorre devido ao papel dualístico do H₂O₂, o qual é importante ao crescimento e desenvolvimento das plantas por ser regulador de processos fisiológicos como a abertura estomática, fotossíntese, fortalecimento da parede celular e proteção das plantas a estresses abióticos, podendo também ter efeitos maléficos quando presente em concentrações elevadas no tecido foliar (WEN et al., 2013; NIU; LIAO, 2016).

A ingestão diária de Cu recomendada (IDR) para adultos é de 0,9 mg no Brasil e Estados Unidos (ANVISA, 2005; FDA, 2016) e de 1,3 mg (mulheres) e 1,6 mg (homens) na Europa (EFSA, 2015). Portanto, com base na MID_{Cu} estimada para brasileiros adultos com até 65 anos de idade e considerando o consumo diário de 50 g de hortaliças, verificou-se que ao consumir as raízes tuberosas de beterraba ou cabeças de repolho das plantas cultivadas na concentração de $1,02 \text{ mg Cu L}^{-1}$ (Figura 4 a), o indivíduo irá ingerir 23,4% da recomendação diária a partir do consumo de raízes tuberosas de beterraba e 7,8% ao consumir os tecidos da cabeça do repolho. Convém destacar que as 50 g de hortaliças utilizadas nessa simulação, que representam o consumo per capita de hortaliças dos brasileiros, que pode ser similar a de outros países do Mundo, podem suprir quantidades maiores que a IDR, o que possivelmente ocasionará ingestão excessiva de Cu, uma vez que este nutriente estará presente nos demais alimentos que fazem parte da dieta dos consumidores. O consumo diário de frutas e hortaliças preconizado pela Organização Mundial da Saúde é de 400 g dia^{-1} (WHO, 2004). Diante dessa recomendação, caso um indivíduo venha a consumir uma raiz tuberosa de beterraba com 150 g de massa fresca (*in natura*), oriunda do presente estudo, e cultivada sob concentração de $1,02 \text{ mg de Cu L}^{-1}$ de solução nutritiva, o mesmo estará ingerindo 0,65 mg de Cu, o que corresponde a 72,2% da recomendação diária.

O Quociente de Risco (QR) quando menor que 1 (um), demonstra que nenhum risco potencial à saúde é esperado da exposição ao Cu ingerido. Contudo, quando esse é maior que 1 (um), significa que há riscos potenciais à saúde devido a ingestão de Cu (US EPA, 1989). As raízes tuberosas das plantas de beterraba apresentaram os maiores QRs, variando de 0,43, na concentração de $0,02 \text{ mg Cu L}^{-1}$, a 0,98 na concentração de $1,02 \text{ mg L}^{-1}$ (Figura 4 b). Os QRs dos tecidos da cabeça das plantas de repolho aumentaram de 0,23 para 0,48, nas concentrações de $0,02$ e $0,88 \text{ mg Cu L}^{-1}$ na solução nutritiva, respectivamente, com posterior redução (Figura 4 b). Portanto, nesse estudo, observou-se que as raízes tuberosas da beterraba e as cabeças de repolho expostas a qualquer concentração de Cu avaliada, não oferecem riscos à saúde de seus consumidores (brasileiros adultos).

A partir desses resultados é necessário ter algumas precauções, pois os resultados observados são dependentes dos valores dos parâmetros empregados para estimar o risco aos consumidores (exemplo, consumo diário de hortaliças, massa corporal do indivíduo, etc...), dificultando a extrapolação de qualquer conclusão sem antes realizar uma análise criteriosa. A partir do exemplo utilizado acima, o indivíduo que consumir raízes tuberosas de beterraba cultivada na maior concentração de Cu testada ($1,02 \text{ mg Cu L}^{-1}$), com 150 g de massa fresca,

aumentará o QR proporcionalmente e, portanto, o consumo da beterraba produzida nessa condição passará a oferecer risco a saúde.

5 CONCLUSÃO

A presença de mecanismos restritivos à translocação do Cu presente em altas concentrações nas raízes para aos demais órgãos da parte aérea foram observadas nas plantas de beterraba e repolho. Mas, as concentrações de Cu nos órgãos da parte aérea nas duas culturas e nas raízes tuberosas da beterraba aumentaram com as concentrações de Cu na solução nutritiva, atingindo níveis considerados fitotóxicos, reduzindo a produção de matéria seca. Nas plantas de repolho foi observada redução apenas na massa fresca de cabeça, o que indica a presença de mecanismos de tolerância às elevadas concentrações de Cu nas plantas de repolho em relação às de beterraba. Contudo, nas plantas de repolho foi observado aumento das concentrações de Cu na cabeça, que é o principal órgão consumido pelo ser humano.

Apesar das concentrações de Cu nas folhas das plantas de beterraba atingirem níveis considerados fitotóxicos, não foram observados efeitos sobre os parâmetros fisiológicos e bioquímicos. Contudo, nas plantas de repolho foi observado aumento na concentração de clorofila b, e diminuição na concentração de H₂O₂ e níveis de TBARs.

Quando considerados os valores de referência e as condições experimentais, o consumo das raízes tuberosas da beterraba e cabeças de repolho não representam riscos potenciais à saúde de seus consumidores.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, J. Y.; KEEN, C. L. Copper, oxidative stress, and human health. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 26, p. 268-298, 2005.

ADREES, M. et al. The effect of excess copper on growth and physiology of important food crops: a review. **Environ. Sci. Pollut. Res**, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s11356-015-4496-5>.

ALI, S. et al. Impact of copper toxicity on stone-head cabbage (*Brassica oleracea* var. capitata) in hydroponics. **PeerJ**, v. 3, 2015. DOI: [e1119.http://doi.org/10.7717/peerj.1119](http://doi.org/10.7717/peerj.1119).

AMBROSINI, V. G. et al. Reduction of copper phytotoxicity by liming: a study of the root anatomy of young vines (*Vitis labrusca* L.). **Plant Physiol. Biochem**, v. 96, p. 270–280, 2015.

AMBROSINI, V. G. et al. High copper content in vineyard soils promotes modifications in photosynthetic parameters and morphological changes in the root system of 'Red Niagara' plantlets. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 128, p. 89-98, 2018.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 269, de 22 de setembro de 2005. "**REGULAMENTO TÉCNICO SOBRE A INGESTÃO DIÁRIA RECOMENDADA (IDR) DE PROTEÍNA, VITAMINAS E MINERAIS**". Disponível em http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/394219/RDC_269_2005.pdf/2e95553c-a482-45c3-bdd1-f96162d607b3. Acesso em 02 fev. 2018.

BALKHAIR, K. S.; ASHRAF, M. A. Field accumulation risks of heavy metals in soil and vegetable crop irrigated with sewage water in western region of Saudi Arabia **Saudi J. Biol. Sci.**, v. 23, n. 1, pp. S32-S44, 2016.

BAILEY-SERRES, J. et al. The Dynamic Plant: Capture, Transformation, and Management of Energy. **Plant Physiology**, v. 176, n. 2, p. 961-966, 2018. DOI: 10.1104/pp.18.00041

BASSI, D.; MENOSSI, M.; MATTIELLO, L. Nitrogen supply influences photosynthesis establishment along the sugarcane leaf. **Scientific Reports**, v. 8, n. 2327, 2018.

CAMBROLLÉ, J. et al. Growth and photosynthetic responses to copper in wild grapevine. **Chemosphere**, v. 93, p. 294–301, 2013.

CAMBROLLÉ, J. Evaluating wild grapevine tolerance to copper toxicity. **Chemosphere**, Oxford, v.120, p. 171-8, 2015.

CANELLA, D. S. et al. Consumption of vegetables and their relation with ultra-processed foods in Brazil. **Revista de Saúde Pública**, v. 52, n. 50. Epub May 21, 2018. DOI: <https://dx.doi.org/10.11606/s1518-8787.2018052000111>.

COMIN, J. J. et al. Liming as a means of reducing copper toxicity in black oats. **Ciência Rural**, v. 48, n. 4, Epub April 16, 2018. DOI: <https://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20170278>.

COUTO, R. R. et al. Health risk assessment and soil and plant heavy metal and bromine contents in field plots after ten years of organic and mineral fertilization. **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, v. 153, p. 142–150, 2018.

CUBA-DIAZ, M. et al. Effect of copper (II) ions on morpho-physiological and biochemical variables in *Colobanthus quitensis*. **Journal of soil science and plant nutrition**, v. 17, n. 2, p. 429-440, 2017.

CUI X, S. et al. Concentrations of heavy metals in suburban horticultural soils and their uptake by *Artemisia selengensis*. **Pedosphere**, v. 25, n. 6, p. 878–887, 2015.

DAVIS, R. D.; BECKETT, P. H. T.; WOLLAN, E. Critical levels of twenty potentially toxic elements in young spring barley. **Plant and Soil**, v. 49, p. 394–408, 1978.

DEY S., MAZUMDER, P.B.; PAUL, S.B. Effect of copper on growth and chlorophyll content in tea plants (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze). **Int J Res Appl Natl Soc Sci.**, v. 2, p. 223–230, 2014.

DING, Z.; LI, Y.; SUN, Q. Trace elements in soils and selected agricultural plants in the tongling mining area of China. **Int. J. Environ. Res. Public Health**, v. 25, 2018.

EL-MOSHATY, F. I. B. et al. Lipid peroxidation and superoxide production in cowpea (*Vigna unguiculata*) leaves infected with tobacco rings pot virus or southern bean mosaic virus. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 43, p. 109 - 119, 1993.

EMBRAPA - Embrapa Solos. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica; Brasília, DF: Embrapa Solos, 2009. 627p.

EMAMVERDIAN, A. et al. Heavy Metal Stress and Some Mechanisms of Plant Defense Response. **Scientific World Journal**, Article ID 756120, 18 p, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2015/756120>

Food and Drug Administration. Revision of the Nutrition and Supplement Facts Labels. Federal Register. **Rules and Regulations**, v. 81, n. 103, 2016. Disponível em <https://www.gpo.gov/fdsys/pkg/FR-2016-05-27/pdf/2016-11867.pdf>. Acesso em 02 fev. 2018.

EFSA- European Food Safety Authority. Scientific Opinion on Dietary Reference Values for copper. **EFSA Journal**, v. 13, n. 10. 2015 Disponível em <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2015.4253>. Acesso em 02 fev. 2018.

FLORES-CÁCERES, M. et al. Specific mechanisms of tolerance to copper and cadmium are compromised by a limited concentration of glutathione in alfalfa plants. **Plant Science**, v. 233, p. 165-173, 2015.

GEBREYOHANNES F.; GEBREKIDAN, A. Health risk assessment of heavy metals via consumption of spinach vegetable grown in Elalla River. **Bull. Chem. Soc. Ethiop.**, v. 32, n. 1, p. 65-75, 2018. DOI: <https://dx.doi.org/10.4314/bcse.v32i1.6>

GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxidedismutase I. Occurrence in higher plants. **Plant Physiol.**, v. 59, p. 309–314, 1977.

GIROTTTO, E. et al. Triggered antioxidant defense mechanism in maize grown in soil with accumulation of Cu and Zn due to intensive application of pig slurry. **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, v. 93, p. 145–155, 2013.

GUERRA, F. et al. Heavy metals in vegetables and potential risk for human health. **Scientia Agricola**, v. 69, p. 54–60, 2012

HISCOX, J. D.; ISRAELSTAM, G. F. A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. **Can. J. Bot.**, v. 57, p. 1332-1334, 1979.

HU, W. et al. Heavy metals in intensive greenhouse vegetable production systems along Yellow Sea of China: levels, transfer and health risk. **Chemosphere**, v. 167, p. 82–90, 2017.

BRASIL. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009: análise do consumo alimentar pessoal no Brasil. Rio de Janeiro: IBGE; 2011. Acessado em 3 abr 2018. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaoodevida/pof/2008_2009_analise_consumo/

ISERI, O. et al. Copper-induced oxidative damage, antioxidant response and genotoxicity in *Lycopersicon esculentum* Mill. and *Cucumis sativus* L. **Plant cell reports**, v. 30, 1713-21, 2011. DOI: 10.1007/s00299-011-1079-x.

JAN, S.; PARRAY, J. A. **Heavy Metal Uptake in Plants**. In: Approaches to Heavy Metal Tolerance in Plants. Springer, Singapore, 2016.

JANICKA-RUSSAK, M. et al. Response of plasma membrane H⁺-ATPase to heavy metal stress in *Cucumis sativus* roots. **J. Exp. Bot.**, v. 59, p. 3721–3728, 2008.

YANG, J. et al. Health risk assessment of vegetables grown on the contaminated soils in daye city of Hubei Province, China. **Sustainability**, v. 9, p. 2141, 2017.

JOLLY, Y. N.; ISLAM, A.; AKBAR, S. Transfer of metals from soil to vegetables and possible health risk assessment. **SpringerPlus**, v. 2, p. 385–391, 2013.

KABATA-PENDIAS, A. **Trace Elements in Soils and Plants**. CRC Press, Boca Ratón, Florida, 2011.

KACHOLI, D. S.; SAHU, M. Levels and Health Risk Assessment of Heavy Metals in Soil, Water, and Vegetables of Dar es Salaam, Tanzania. **Journal of Chemistry**, v. 2018, p. 9, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1155/2018/1402674>.

KELLER, C. et al. Effect of silicon on wheat seedlings (*Triticum turgidum* L.) grown in hydroponics and exposed to 0 to 30 mM Cu. **Planta**, v. 241, p. 847–860, 2015.

KHAN, Z. I. et al. Risk assessment of heavy metal toxicity through contaminated vegetable from sewage water: Implications for populace health. **Human and Ecological Risk Assessment**, v. 22, n. 2, p. 302-311, 2015. DOI: 10.1080/10807039.2015.1052959.

KITAJIMA, K, HOGAN, K. P. Increases of chlorophyll *a/b* ratios during acclimation of tropical woody seedlings to nitrogen limitation and high light. **Plant, Cell and Environment**, v. 26, p. 857–865, 2003.

KULIKOVA, A. L. et al. Effect of copper excess in environment on soybean root viability and morphology. **Russian Journal of Plant Physiology**, v. 58, n. 5, p. 836-843, 2011.

KUMCHAI, J. et al. Proline partially overcomes excess molybdenum toxicity in cabbage seedlings grown in vitro. **Genet. Mol. Res.**, v. 12, p. 5589–5601, 2013. DOI: 10.4238/2013.November.18.8.

LICHTENTHALER, H. K. Chlorophylls and Carotenoids: Pigments of Photosynthetic Biomembranes. **Methods in Enzymology**, v. 148, p. 350-382, 1987. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/0076-6879\(87\)48036-1](http://dx.doi.org/10.1016/0076-6879(87)48036-1)

LIU, J. J.; WEI, Z.; LI, J. H. Effects of copper on leaf membrane structure and root activity of maize seedling. **Bot. Stud.**, v. 55, p. 1–6, 2014.

LORETO, F., VELIKOVA, V. Isoprene produced by leaves protects the photosynthetic apparatus against ozone damage, quenches ozone products, and reduces lipid peroxidation of cellular membranes. **Plant Physiology**, v. 127, p. 1781 – 1787, 2001.

LU, C.; TIAN, H. Global nitrogen and phosphorus fertilizer use for agriculture production in the past half century: shifted hot spots and nutrient imbalance, **Earth Syst. Sci. Data**, v. 9, p. 181–192, 2017. DOI: <https://doi.org/10.5194/essd-9-181-2017>.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 3.ed London: Elsevier, 2012. 643p.

MARTORELL, I. et al. Human exposure to arsenic, cadmium, mercury, and lead from foods in Catalonia, Spain: Temporal trend. **Biological Trace Element Research**, v. 142), p. 309-322, 2011.

MATEOS-NARANJO, E. et al. Assessing the effect of copper on growth, copper accumulation and physiological responses of grazing species *Atriplex halimus*: Ecotoxicological implications. **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, v. 90, p. 136–142, 2013.

MENDOZA, C. J. et al. et al. Evaluation of the bioaccessible gastric and intestinal fractions of heavy metals in contaminated soils by means of a simple bioaccessibility extraction test. **Chemosphere**, v. 176, p. 81- 88, 2017.

MORALES, J. M. L.; RODRÍGUEZ-MONROY, M.; SEPÚLVEDA-JIMÉNEZ, G. Betacyanin accumulation and guaiacol peroxidase activity in *Beta vulgaris* L. leaves following copper stress. **Acta Soc. Bot. Pol.**, v. 81, p. 193–201, 2012.

MOURATO, M. P. et al. Effect of heavy metals in plants of the genus brassica **Int. J. Mol. Sci.**, v. 16, n. 8, p. 17975-17998, 2015.

MURPHY, A. S. et al. Early copper-induced leakage of K⁺ from *Arabidopsis* seedlings is mediated by ion channels and coupled to citrate efflux. **Plant Physiol.**, v. 121, p. 1375–1382, 1999.

NIU, L.; LIAO, W. Hydrogen Peroxide Signaling in Plant Development and Abiotic Responses: Crosstalk with Nitric Oxide and Calcium. **Frontiers Plant Science.**, 04 March 2016. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00230>.

PAN, X. D.; WU, P. G.; JIANG, X. G. Levels and potential health risk of heavy metals in marketed vegetables in Zhejiang, China. **Scientific Reports**, v. 6, p. 20317, 2016. DOI: <http://doi.org/10.1038/srep20317>.

POSMYK, M. M. et al. Antioxidant enzymes activity and phenolic compounds content in red cabbage seedlings exposed to copper stress. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 72, p. 596-602, 2009.

RASCIO, N.; NAVARI-IZZO, F. Heavy metal hyperaccumulating plants: How and why do they do it? And what makes them so interesting? **Plant Sci.**, v. 180, p. 169–181, 2011.

REHMAN, Z. U. et al. Transfer of Heavy Metals from Soils to Vegetables and Associated Human Health Risk in Selected Sites in Pakistan, **Pedosphere**, 2017, DOI: 10.1016/S1002-0160(17)60440-5.

RADULESCU, C. et al. Heavy Metal Accumulation and Translocation in different parts of Brassica oleracea L. **Rom. J. Phys.**, v. 58, n. 9-10, p. 1337–1354, 2013.

SANCHEZ-PARDO, B.; FERNANDEZ-PASCUAL, M.; ZORNOZA, P. Copper microlocalisation and changes in leaf morphology, chloroplast ultrastructure and antioxidative response in white lupin and soybean grown in copper excess. **J Plant Res.**, v. 127, p. 119–129, 2014.

SHAHBAZ, M. et al. Copper exposure interferes with the regulation of the uptake, distribution and metabolism of sulfate in Chinese cabbage. **Journal of Plant Physiology**, v. 167, n. 6, p. 438–446, 2010. DOI 10.1016/j.jplph.2009.10.016.

SLAVIN, J. L.; LLOYD, B. Health Benefits of Fruits and Vegetables. **Advances in Nutrition**, v. 3, n. 4, p. 506–516, 2012. DOI: <http://doi.org/10.3945/an.112.002154>

SONG, K. et al. Effects of the continuous use of organic manure and chemical fertilizer on soil inorganic phosphorus fractions in calcareous soil. **Scientific Reports**, v. 7, p. 1164, 2017. DOI: <http://doi.org/10.1038/s41598-017-01232-2>

TAZZO, I. F. et al. Evapotranspiração do pimentão em estufa plástica estimada com dados meteorológicos externos, na primavera. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. v. 16, p. 275-280, 2012.

TIECHER, T. L. et al. Tolerance and translocation of heavy metals in young grapevine (*Vitis vinifera*) grown in sandy acidic soil with interaction of high doses of copper and zinc. **Sci. Hortic.**, v. 222, p. 203–212, 2017.

TIECHER, T. L. et al. The interaction of high copper and zinc doses in acid soil changes the physiological state and development of the root system in young grapevines (*Vitis vinifera*), **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 148, p. 985-994, 2018.

US EPA. Risk assessment guidance for superfund. Human Health Evaluation Manual Part A, Interim Final, vol. I. Washington (DC)7 United States Environmental Protection Agency; 1989. EPA/540/1-89/002.

US EPA. Exposure Factors Handbook, National Center for Environmental Assessment, Office of Research and Development, , 1997. EPA/600/P-95/002Fa ± c. Disponível em:https://rais.ornl.gov/documents/EFH_Final_1997_EPA600P95002Fa.pdf

ZHU, Z. et al. Silicon alleviates salt stress and increases antioxidant enzymes activity in leaves of salt stressed cucumber (*Cucumis sativus* L.). **Plant Science**, v. 167, p. 527–533, 2004.

YRUELA, I. Copper in plants. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 17, n. 1, p. 145-146, 2005.

ZERAIK, A. E.; SOUZA, F. S.; FATIBELLO-FILHO, O. Desenvolvimento de um spot test para o monitoramento da atividade da peroxidase em um procedimento de purificação. **Quím Nova**, v. 31, p. 731–734, 2008.

VINIT-DUNAND, F. et al. Effects of copper on growth and on photosynthesis of mature and expanding leaves in cucumber plants. **Plant Science**, v. 163, n. 1, p. 53–58, 2002.

WANG, P. et al. Development of an electrostatic model predicting copper toxicity to plants. **Journal of Experimental Botany**, v. 63, p. 659–668, 2012.

WEN J. F. et al. Effect of hydrogen peroxide on growth and activity of some enzymes involved in proline metabolism of sweet corn seedlings under copper stress. **Sci. Hortic.**, v. 164, p. 366–371, 2013. DOI: 10.1016/j.scienta.2013.09.031

WHO (World Health Organization). Copper (Environmental Health Criteria 200). Geneva, 1998.

WHO (World Health Organization). Global Strategy on Diet, Physical Activity (2004) http://www.who.int/dietphysicalactivity/publications/f&v_weight_management.pdf?ua=1

WUANA, R. A.; OKIEIMEN, F. E., **Heavy Metals in Contaminated Soils: A Review of Sources, Chemistry, Risks and Best Available Strategies for Remediation**. *ISRN Ecology*, v. 2011, Article ID 402647, 20 p, 2011. DOI: <https://doi.org/10.5402/2011/402647>.

Figura 1 - Dados de temperatura média do ar (a) e a umidade relativa do ar (b) do ambiente de cultivo obtidas por meio de dois registradores eletrônicos (NOVUS, LogBox-RHT-LCD, Brasil), instalados sobre as plantas.

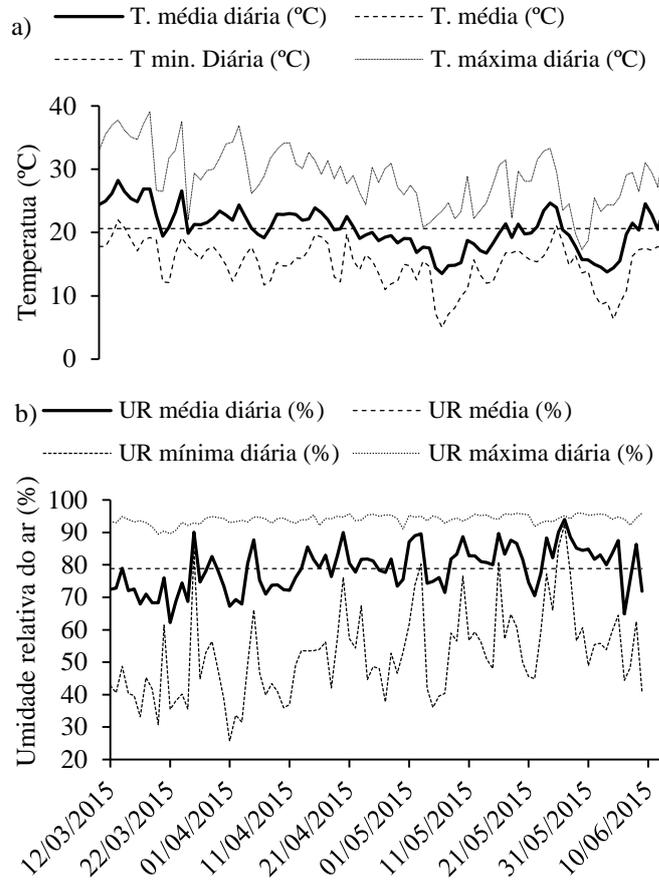


Tabela 1 - Parâmetros morfológicos de crescimento, fisiológicos, pigmentos fotossintéticos e parâmetros bioquímicos, teores de Cu acumulado e avaliação de riscos em beterraba, da cultivar “Katrina”, cultivada em diferentes concentrações de Cu na solução nutritiva.

Parâmetros avaliados	Significância	Equação ajustada/média	R ²	CV (%)
<i>Parâmetros morfológicos de crescimento</i>				
MFPA	**	$\hat{y} = 275,51 - 143,64x$	0,92	28,32
MFRT	**	$\hat{y} = 338,48 - 181,96x$	0,92	21,32
MSPA	**	$\hat{y} = 23,24 - 11,79x$	0,93	20,57
MSFolhas	**	$\hat{y} = 15,32 - 8,36x$	0,90	21,42
MSPecíolos	*	$\hat{y} = 7,87 - 3,42x$	0,88	30,40
MSRT	**	$\hat{y} = 26,42 - 12,98x$	0,95	22,39
MSRaízes	**	$\hat{y} = 2,44 - 1,65x$	0,90	29,00
<i>Teor de Cu</i>				
Folhas	**	$\hat{y} = 21,78 + 73,55x - 32,62x^2$	0,97	15,73
Pecíolos	**	$\hat{y} = 13,83 + 23,50x - 9,78x^2$	0,98	17,45
Raízes tuberosas	**	$\hat{y} = 21,35 + 46,57x - 17,31x^2$	0,95	1,75
Raízes	**	$\hat{y} = 65,91 + 1266,2x - 684,13x^2$	0,94	7,02
<i>Cu acumulado</i>				
Folhas	ns	0,476		27,42
Pecíolos	ns	0,129		32,88
Raízes tuberosas	ns	0,715		20,53
Raízes	**	$\hat{y} = 0,20 + 1,92x - 1,53x^2$	0,73	30,64
Total	**	$\hat{y} = 1,28 + 3,10x - 2,48x^2$	0,66	18,47
<i>Parâmetros fisiológicos</i>				
A	ns	17,586		27,78
Gs	ns	0,511		39,99
Ci	ns	299,622		4,46
E	ns	4,569		26,90
EUA	ns	3,887		12,74
A/Ci	ns	0,058		27,71
<i>Pigmentos fotossintéticos</i>				
Clorofila a	ns	0,909		24,74
Colorofila b	ns	0,441		29,87
Carotenóides	ns	0,297		20,73

				(continua)	
Clorofila total	ns	1,350		26,39	
Clorofila a/Clorofila b	ns	2,061		6,16	
Carotenóides/Clorofila total	ns	0,222		6,43	
<i>Parâmetros bioquímicos</i>					
TBARs	ns	0,977		41,58	
SOD	ns	19,423		30,77	
POD	ns	20,30		50,18	
H ₂ O ₂	ns	1,119		42,70	
<i>Avaliação de risco</i>					
MDI _{Cu}	**	$\hat{y} = 0,08 + 0,22x - 0,09x^2$	0,95	10,87	
QR	**	$\hat{y} = 0,41 + 0,90x - 0,33x^2$	0,94	1,75	

Significância do Teste F: ns=não significativo; * =significativo a 5%; ** =significativo a 1%.

Figura 2- Massa fresca de parte aérea (MFPA) e raízes tuberosas (MFRT) (a), massa seca de folhas (MSFolhas), raízes tuberosas (MSRT), parte aérea (MSPA) (b), massa seca de pecíolos (MSPecíolos) e de raízes (MSRaízes) (c), teor de cobre nos diferentes tecidos (d) e (e) e cobre acumulado nos diferentes tecidos e o total (f) em beterraba, cultivar “Katrina”, cultivada em concentrações de Cu na solução nutritiva. Barras verticais representam erro padrão.

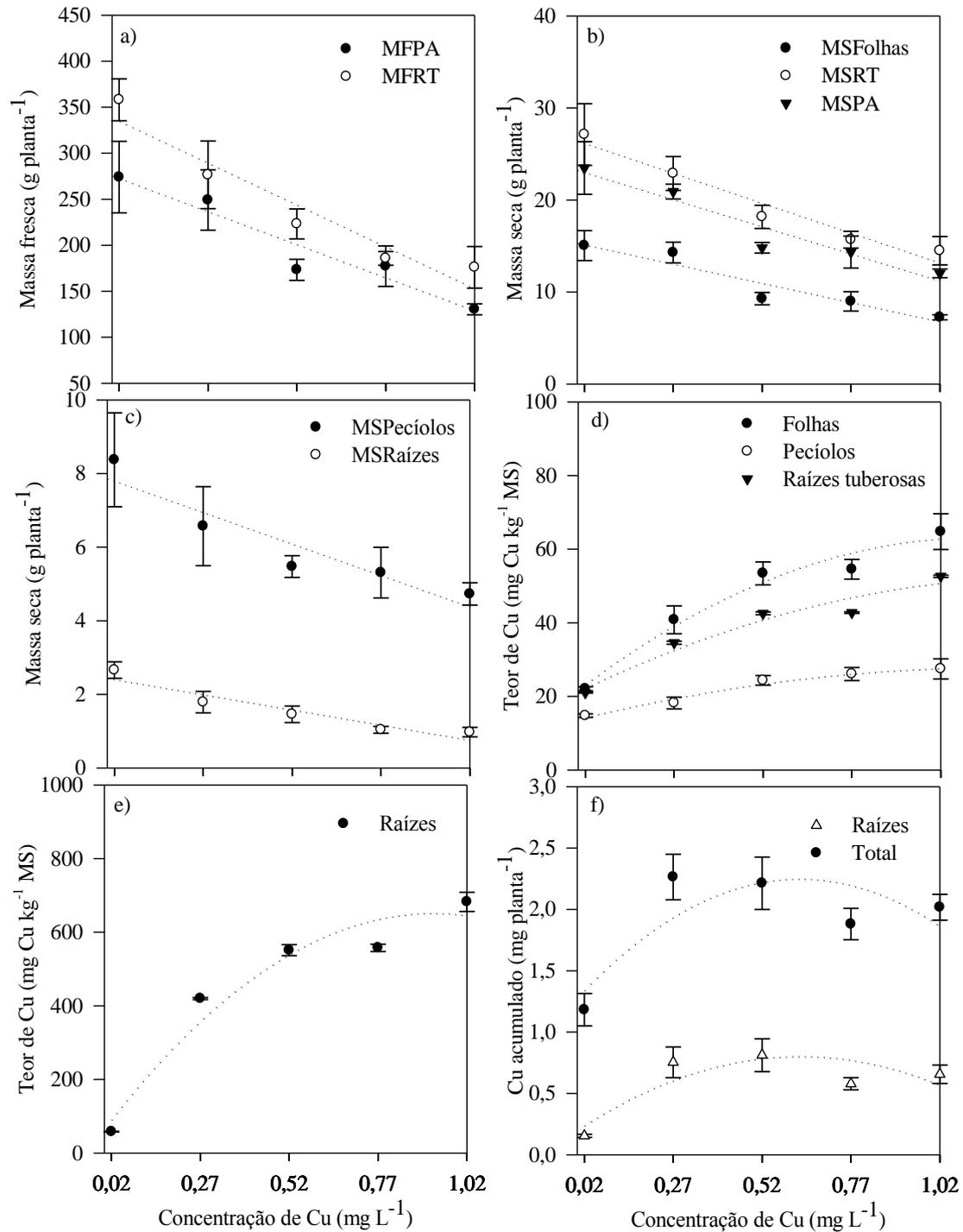


Tabela 2 - Parâmetros morfológicos de crescimento, fisiológicos, pigmentos fotossintéticos e parâmetros bioquímicos, teores de Cu acumulado e avaliação de riscos em plantas de repolho, da cultivar “Fuyutoyo”, cultivada em diferentes concentrações de Cu na solução nutritiva.

Parâmetros avaliados	Significância	Equação ajustada/média	R ²	CV (%)
<i>Parâmetros morfológicos de crescimento</i>				
MFPA	ns	2405,81		10,85
MFCA	*	$\hat{y} = 1.392,95 - 343,69x$	0,75	15,00
MSPA	ns	166,14		11,04
MSFolhas	ns	89,09		15,57
MSCA	ns	57,01		19,23
MSCaule	ns	20,03		9,30
MSRaízes	ns	11,76		19,07
<i>Teor de Cu</i>				
Folhas	**	$\hat{y} = 8,41 + 36,77x - 12,69x^2$	0,98	9,54
Cabeça	**	$\hat{y} = 11,63 + 31,43x - 17,75x^2$	0,98	13,19
Caule	**	$\hat{y} = 6,58 + 42,07x - 24,15x^2$	0,99	3,97
Raízes	**	$\hat{y} = 54,94 + 1482,31x - 743,73x^2$	0,99	10,97
<i>Cu acumulado</i>				
Folhas	**	$\hat{y} = 0,75 + 3,54x - 1,53x^2$	0,97	17,63
Cabeça	**	$\hat{y} = 0,65 + 2,29x - 1,61x^2$	0,91	25,54
Caule	**	$\hat{y} = 0,13 + 0,96x - 0,64x^2$	0,99	10,86
Raízes	**	$\hat{y} = 0,89 + 18,18x - 11,26x^2$	0,98	17,51
Total	**	$\hat{y} = 2,42 + 24,99x - 15,06x^2$	0,97	9,34
<i>Parâmetros fisiológicos</i>				
A	ns	19,170		11,80
Gs	ns	0,916		41,73
Ci	ns	319,423		6,45
E	ns	6,167		17,03
EUA	ns	3,196		21,45
A/Ci	ns	0,060		14,78
<i>Pigmentos fotossintéticos</i>				
Clorofila a	ns	0,699		15,17
Colorofila b	*	$\hat{y} = 0,33 + 0,40x - 0,44x^2$	0,66	16,19
Carotenóides	ns	0,208		15,60

				(continua)	
Clorofila total	ns	1,069		15,34	
Clorofila <i>a</i> /Clorofila <i>b</i>	ns	1,904		4,70	
Carotenóides/Clorofila total	ns	0,194		3,27	
<i>Atividade enzimática</i>					
TBARs	*	$\hat{y} = 1,22 - 0,55x$	0,66	22,90	
SOD	ns	15,279		26,89	
POD	ns	11,153		63,80	
H ₂ O ₂	*	$\hat{y} = 0,52 - 0,80x + 0,85x^2$	0,75	25,44	
<i>Avaliação de risco</i>					
MDI _{Cu}	**	$\hat{y} = 0,03 + 0,04x$	0,81	29,51	
QR	**	$\hat{y} = 0,22 + 0,60x - 0,34x^2$	0,98	13,19	

Significância do Teste F: ns=não significativo; * =significativo a 5%; ** =significativo a 1%.;

Figura 3 - Massa fresca de parte aérea (MFPA) e massa fresca de cabeça (MFCA) (a), teor de cobre nas folhas, cabeça e caule (b), das raízes (c) e cobre acumulado nas folhas, cabeça e caule (d), nas raízes e o total (e), em repolho, cultivar “Fuyutoyo”, cultivado em concentrações de Cu na solução nutritiva.

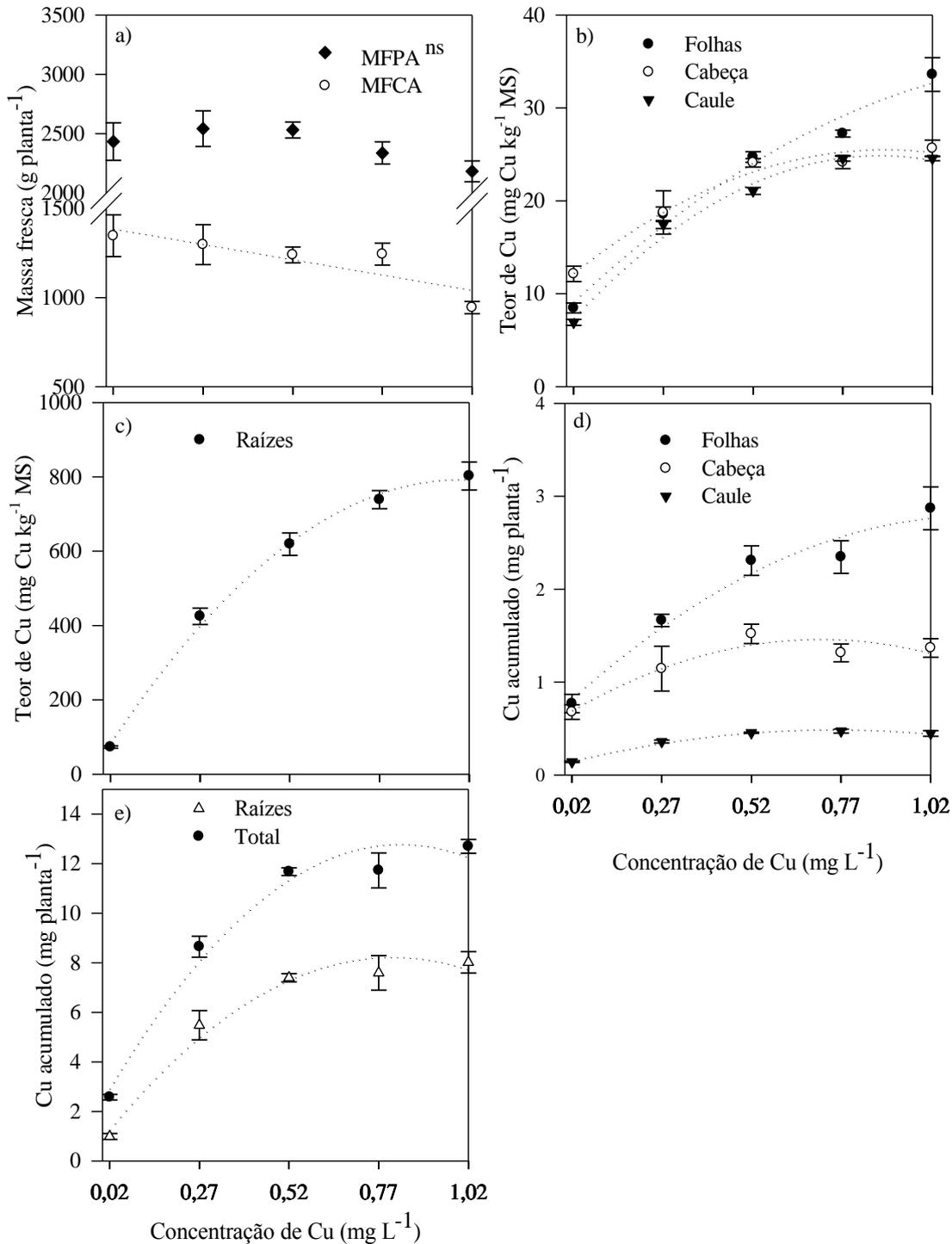
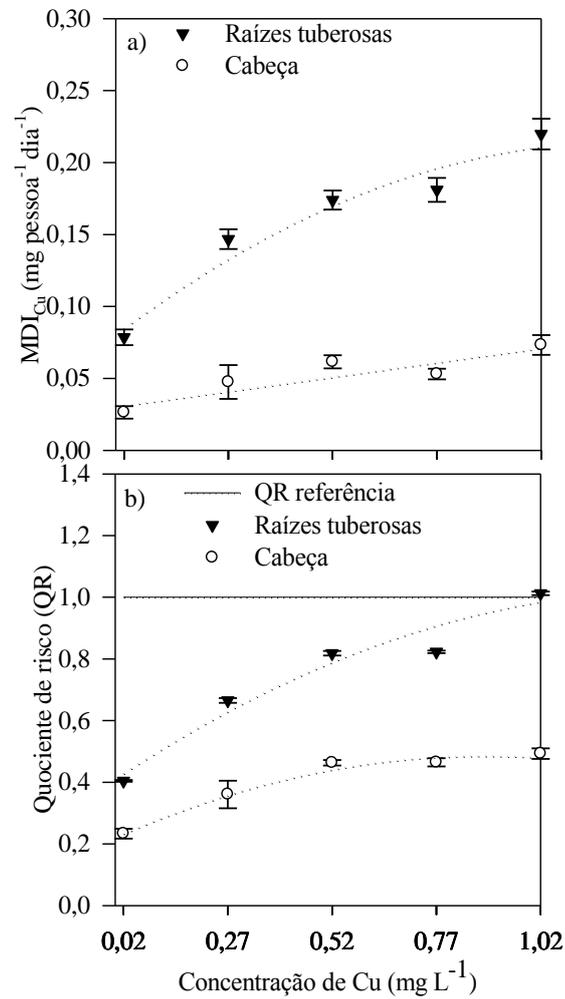


Figura 4 - Média diária de ingestão de Cu (a) e quociente de risco (b) aos consumidores das raízes tuberosas de beterraba e cabeça de repolho cultivadas sob diferentes concentrações de Cu em solução nutritiva.



ESTUDO 3 - PARÂMETROS MORFOLÓGICOS E FISIOLÓGICOS EM BETERRABA E REPOLHO CULTIVADAS EM SOLUÇÃO CONTENDO COBRE

RESUMO

O cobre (Cu) pode ser tóxico para as hortaliças quando absorvido e acumulado em elevadas quantidades, e potencializar o risco a introdução excessiva do metal na cadeia alimentar humana. O trabalho objetivou avaliar parâmetros morfológicos e bioquímicos em beterraba e repolho cultivadas em solução contendo Cu. Plantas de beterraba e repolho foram cultivadas durante 75 dias em vasos com areia contendo seis concentrações de Cu na solução nutritiva: 0,00; 0,52; 1,02; 1,52; 2,02 e 2,52 mg Cu L⁻¹. Foi avaliada a produção de massa seca e o acúmulo de Cu nos diferentes órgãos das plantas. Também foram avaliados os teores de clorofila *a* e *b*, carotenóides, clorofila total, relação clorofila *a*/clorofila *b* e carotenóides/clorofila total, os níveis de TBARs, atividade das enzimas SOD e POD e a concentração de H₂O₂ nas folhas. Altas concentrações de Cu na solução nutritiva reduziram o crescimento das plantas e aumentaram os teores e a acumulação nos tecidos potencializando possíveis riscos a saúde associada ao consumo *in natura* de raízes tuberosas de beterraba e da cabeça de repolho, dependendo da quantidade incluída na dieta diária.

Palavras chaves: *Beta vulgaris* L; *Brassica oleracea* var. capitata; metais pesados; toxidez; hortaliças

ABSTRACT

Copper (Cu) is an essential nutrient in plants, but can be toxic when absorbed and accumulated in high quantities in tissues and may increase the risk of excessive introduction of the metal into the food chain. The objective of this work was to determine Cu accumulation in tissues and its effects on morphological and biochemical parameters in beet and cabbage plants grown under different Cu concentrations in the nutrient solution. Beet and cabbage plants were grown for 75 days in sand pots containing six Cu concentrations in the nutrient solution: 0.00; 0.52; 1.02; 1.52; 2.02 and 2.52 mg Cu L⁻¹. It were determined the dry mass and Cu accumulation in plant organs and levels of chlorophyll *a* and *b*, carotenoids, total chlorophyll, chlorophyll *a*/chlorophyll *b* and carotenoids/total chlorophyll, TBARs levels,

SOD and POD enzyme activity and H₂O₂ concentration in leaves of both species.. High Cu concentrations in the nutrient solution reduces crop growth and enhances its accumulation in plant tissues increasing the health risks associated with the consumption *in natura* of beetroots and head cabbage tissues, depending on the daily intake.

Keywords: *Beta vulgaris* L.; *Brassica oleracea* var. capitata; heavy metal; toxicity; vegetables

1 INTRODUÇÃO

Hortaliças são cultivadas no solo, em recipientes contendo compostos orgânicos ou substratos inertes e em ambientes sem solo. Em todos os sistemas acontece o uso intensivo de fertilizantes químicos e orgânicos, e de produtos fitossanitários. Todas estas fontes possuem cobre (Cu) na sua composição. Assim, ao longo do tempo se espera incremento de Cu no ambiente de cultivo e em órgãos das hortaliças que podem causar toxidez às plantas (GRIGATTI et al., 2007; ALI e SHAKRANI, 2011) e representar um risco a saúde humana (KACHOLI e SAHU, 2018; GEBREYOHANNES e GEBREKIDAN, 2018).

O excesso de Cu nos tecidos das plantas, pode ocasionar danos oxidativos e degeneração de componentes celulares, sendo resultado de desequilíbrios entre a reação antioxidante e o aumento na geração de espécies reativas de oxigênio (EROs) nas plantas (GIROTTTO et al., 2013), podendo prejudicar o crescimento e do desenvolvimento de plantas (ALI et al., 2015; GIROTTTO et al., 2014). No entanto, a concentração de Cu em órgãos de hortaliças e seus efeitos são variáveis entre espécies (CUI et al., 2015; PAN et al., 2016), devido a diferenças na absorção e translocação de Cu, podendo essa ser mais elevada em espécies folhosas, produtoras de bulbos, raízes e caules do que em plantas frutíferas (HU et al., 2017; DING et al., 2018). Essas diferenças podem estar relacionadas principalmente à presença de barreiras na absorção e translocação do Cu para os frutos (SUN et al., 2013). Variações na concentração de Cu em diferentes órgãos, dentro de uma mesma planta também são comuns, podendo atingir níveis tóxicos em alguns órgãos e normais em outros (ADREES et al., 2015), sendo os efeitos variáveis de acordo com a concentração nos tecidos dos diferentes órgãos da planta e seus mecanismos de tolerância (MATEOS-NARANJO et al., 2013).

Em plantas de beterraba (*Beta vulgaris* L.) expostas a concentrações de Cu foram observadas diminuições no crescimento de raízes e folhas, além do aumento do estresse oxidativo (MORALES et al., 2012). Já a exposição de plantas de repolho (*Brassica oleracea*

var. *capitata*) a altas concentrações de Cu, resultou em teores foliares do elemento considerados fitotóxicos, os quais causaram reduções no conteúdo de pigmentos fotossintéticos e na atividade fotossintética (ALI et al., 2015).

A beterraba e o repolho estão entre as principais espécies olerícolas exploradas comercialmente no mundo e também no Brasil. A cultura da beterraba tem na raiz tuberosa seu principal órgão de interesse comercial, enquanto que para a cultura do repolho são as folhas que formam a “cabeça”. Portanto, é possível que o comportamento destas culturas frente às concentrações de Cu seja diferente, assim como os teores de Cu presentes nos tecidos. Devido à importância advinda do uso destas culturas na alimentação humana é necessário saber a distribuição e a concentração do Cu nos órgãos, especialmente nos consumidos na alimentação humana. A partir disso, é possível estimar o impacto sobre a saúde humana, pois o excesso de Cu em alimentos pode causar distúrbios gastrointestinais, cardiovasculares, respiratórios, neurológicos, entre outros (ADAMS; KEEN, 2005; MENDOZA et al., 2017).

O estudo objetivou avaliar parâmetros morfológicos e bioquímicos em beterraba e repolho cultivadas em solução contendo Cu.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 DESCRIÇÃO DO EXPERIMENTO

O experimento foi realizado no período de 28 de agosto a 15 de novembro de 2015, na Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), em Santa Maria, região Sul do Brasil (29°43'24.24"S e 53°43'12.36"W). Os cultivos foram realizados no interior de um abrigo de 200 m², tipo guarda-chuva, com 65% de superfície de ventilação, coberto com polietileno aditivado anti-UV de 100 µm de espessura e com 80% de transmissividade. A temperatura média do ar e a umidade relativa do ar do ambiente de cultivo foram obtidas por meio de dois registradores eletrônicos (NOVUS, LogBox-RHT-LCD, Brasil), instalados sobre as plantas e estão apresentados na Figura 1.

O sistema de cultivo foi constituído por vasos de polipropileno com volume de 2,5 dm³, preenchidos com areia de granulometria entre 1 e 3 mm, e capacidade máxima de retenção de água de 0,238 L dm⁻³. Os vasos foram dispostos sobre bancadas a 0,80 m de altura do solo, com 1,10 m de largura e 4 m de comprimento, distribuídos em cinco fileiras de beterraba e três de repolho.

Mudas de beterraba da cultivar Katrina e de repolho da cultivar Fuyutoyio foram produzidas em bandejas de poliestireno de 200 alvéolos, contendo 16 cm^3 por alvéolo do substrato granulado a base de fibra de coco (Golden Mix[®]). Uma planta de beterraba e uma de repolho foram transplantadas em cada vaso e cultivadas concomitantemente. Os vasos com as plantas de beterraba foram organizados com espaçamento de 0,3 m na fileira e 0,27 m entre fileiras, totalizando 12 vasos por metro quadrado. Os vasos com repolho foram organizados com 0,6 m de distância na fileira e 0,27 m entre fileiras, totalizando 6 vasos por metro quadrado. As bancadas foram constituídas por telhas de fibrocimento revestidas com filme de polietileno de 100 micras.

Durante o período experimental a água e os nutrientes foram fornecidos por fertirrigação, através de fita gotejadora, com um gotejador por vaso. A solução nutritiva foi preparada e armazenada em caixas de polipropileno de 500 L e fornecida às plantas através de uma motobomba controlada por um programador horário. A frequência das fertirrigações foi determinada com base na intensidade da radiação solar global e na transpiração potencial de hortaliças cultivadas no local (TAZZO et al., 2012), com um coeficiente de drenagem de 30%. Durante o período experimental foram realizadas diariamente de três a cinco fertirrigações com duração de 15 minutos. O volume de solução nutritiva drenado retornou à caixa de estocagem da solução nutritiva e foi reutilizado, em sistema fechado.

A composição química da água empregada na elaboração das soluções nutritivas não detectou a presença de Cu até o limite de $0,04 \text{ mg L}^{-1}$ (Standard Methods 3111 B). Em todos os tratamentos foi empregada a mesma solução nutritiva, com excessão do Cu. As concentrações dos macronutrientes foram (em mmol L^{-1}): 12,24 de NO_3^- ; 3,0 de NH_4^+ ; 2,5 de H_2PO_4^- ; 6,5 de K^+ ; 2,62 de Ca^{+2} ; e 2,0 de Mg^{+2} . As concentrações dos micronutrientes, com exceção de Cu, foram (em mg L^{-1}): 0,03 de Mo; 0,26 de B; 0,50 de Mn; 0,22 de Zn e 1,0 de Fe por meio de uma solução estoque. O Fe foi fornecido separadamente na forma quelatizada (EDDHA). Essa solução nutritiva apresentou condutividade elétrica (CE) igual a $1,5 \text{ dS m}^{-1}$ e pH de 5,8. As fontes de macronutrientes foram os fertilizantes nitrato de potássio (KNO_3), monoamôniofosfato ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$), nitrato de cálcio-Calcinit[®] ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$) e sulfato de magnésio (MgSO_4).

O delineamento experimental usado nos cultivos foi inteiramente casualizado, com cinco repetições. Os tratamentos, em cada cultivo foram seis concentrações de Cu adicionadas na solução nutritiva: 0,00; 0,52; 1,02; 1,52; 2,02 e $2,52 \text{ mg Cu L}^{-1}$. A fonte de Cu usada foi sulfato de Cu pentahidratado ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) (25% Cu). A condutividade elétrica (CE) e o pH da solução nutritiva foram medidos diariamente. Sempre que o valor medido da CE

apresentou um desvio de 5% em relação ao valor de referência ($1,5 \text{ dS m}^{-1}$) foram feitas correções adicionando-se água ou alíquotas de nova solução nutritiva nas concentrações de referência. O pH foi mantido entre os limites de 5,5 e 6,0, mediante adição de NaOH para aumentar o valor do pH e de H_2SO_4 para reduzir o valor do pH, na concentração 1 mol L^{-1} e $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente.

2.2 PIGMENTOS FOTOSSINTÉTICOS

Aos 72 dias após o início dos cultivos de beterraba e repolho foram coletadas três folhas em cada uma de três plantas amostradas aleatoriamente, dentro de cada tratamento. Nas plantas de beterraba foram selecionadas três folhas recém expandidas e nas plantas de repolho três folhas do terço médio que ainda não faziam parte da cabeça. As folhas coletadas foram imediatamente congeladas em N_2 líquido e armazenadas a -80°C em ultra-freezer (Indrel, RVV 880D, Brasil). A extração de clorofila *a*, clorofila *b* e carotenoides foi realizada em 0,05 g de limbo foliar, seguindo metodologia proposta por Hiscox & Israelslam (1979). A absorvância do extrato obtido foi determinada a 663, 645 e 470 nm, para a clorofila *a*, clorofila *b* e carotenoides, respectivamente, usando espectrofotômetro (FEMTO, Espectrofotômetro 800 XI, Brasil). O teor dos pigmentos foi calculado de acordo com a metodologia proposta por Lichtenthaler (1987). A partir dos teores dos pigmentos fotossintéticos foram calculadas a Clorofila total e as relações clorofila *a*/clorofila *b* e carotenoides/clorofila total.

2.3 ANÁLISES BIOQUÍMICAS

A concentração da malondialdeído (MDA), substância reativa ao ácido tiobartúrico (TBARS) foi determinada indiretamente, através do nível de peroxidação lipídica pelo método descrito por El-Moshaty et al. (1993), com posterior determinação a 532 e 600 nm em espectrofotômetro (FEMTO, Espectrofotômetro 800 XI, Brasil). Para a determinação das enzimas superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1) e peroxidases (POD, EC 1.11.1.7), obteve-se o extrato enzimático a partir de 0,5 g de tecido foliar fresco, macerado com N_2 líquido e homogeneizado com 3,0 mL de tampão fosfato de sódio (TFNa) 50 mM (pH 7,8), contendo EDTA 1,0 mM, e 0,5% (v/v). O extrato foi centrifugado a 13000 g por 20 minutos a 4°C e o sobrenadante foi coletado (Zhu et al., 2004). Alíquotas de 0,5 mL foram estocadas em freezer a -80°C até o momento da quantificação das enzimas. A atividade da enzima SOD foi

determinada de acordo com o método espectrofotométrico, descrito por Giannopolitis e Ries (1977). Já a atividade da enzima POD presente no extrato foi determinada segundo Zeraik et al. (2008), enquanto o conteúdo de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) foi determinado de acordo com o método descrito por Loreto e Velikova (2001).

2.4 PRODUÇÃO DE MASSA FRESCA E SECA E CONCENTRAÇÕES CRÍTICAS DE TOXIDEZ

O experimento foi encerrado aos 75 dias após o plantio, quando foi identificado o ponto de colheita das plantas, adaptado de Filgueira (2012). Na beterraba foi considerado como ponto de colheita o diâmetro médio de 8,5 cm da raiz tuberosa de 5 plantas no tratamento onde as plantas atingiram o maior crescimento. De forma similar, no repolho foi considerada a compacidade da cabeça concomitantemente ao início da senescência das folhas basais plenamente desenvolvidas. Inicialmente foi coletada a parte aérea de cada planta e pesada usando balança de 0,01 g de precisão (Shimadzu, BL 3200H, Brasil), para determinação de massa fresca da parte aérea (MFPA) e da raiz tuberosa (MFRT) na beterraba e a massa fresca de cabeça (MFCA) no repolho. As plantas coletadas foram fracionadas em diferentes partes sendo a beterraba dividida em folhas, pecíolos, raiz tuberosa e raízes, e o repolho em folhas, cabeça, caule e raízes. Após a secagem em estufa de circulação forçada de ar, na temperatura de 65°C até atingir massa constante foi determinada a massa seca em cada um desses órgãos. Posteriormente, por meio da pesagem em balança com precisão de 0,001g (Marconi, MABL500C, Brasil) foram determinadas a massa seca de folhas (MSFolhas), pecíolos (MSPecíolos), raiz tuberosa (MSRT) e raízes (MSRaízes) da beterraba e das folhas que não formaram cabeça (MSFolha), folhas da cabeça (MSCA), caule (MSCaule) e raízes (MSRaízes) do repolho. A massa seca total da parte aérea (MSPA) foi determinada por meio da soma das MS dos órgãos correspondentes. Através da metodologia proposta por Davis et al. (1978), foram calculadas a concentração crítica de toxidez (CCT), que representa a concentração de Cu que reduz em 10% a produção de MS e as concentrações tóxicas CT_{25} e CT_{50} , que reduzem em 25 e 50% a produção de MS de cada órgão, respectivamente.

2.5 CONCENTRAÇÕES E ACÚMULO DE COBRE EM ÓRGÃOS

A matéria seca das folhas, pecíolos, raiz tuberosa e raízes da beterraba e das folhas que não formaram cabeça, cabeça, caule e raízes das plantas de repolho foram moídas em moinho

do tipo Willey, passadas em peneira com malha de 20 mesh e submetidas à digestão nitro-perclórica, seguindo metodologia descrita pela Embrapa (2009). No extrato obtido foi determinado o teor de Cu em cada órgão, em espectrofotômetro de absorção atômica (Perkin Elmer, Aanalyst 200, EUA). Posteriormente, foi calculado o Cu acumulado para cada tecido e o total acumulado por planta.

2.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A pressuposição de normalidade dos dados foi testada e encontrada por meio do Teste de Kolmogorov-Smirnov e, posteriormente, foi realizada a análise da variância. Quando os efeitos dos tratamentos foram significativos ($p \leq 0,05$), equações de regressão foram ajustadas, testando-se os modelos linear e quadrático pelo teste F, escolhendo-se aquele com significância maior que 95 %, por meio do software ASSISTAT versão 7.7. Quando não foi observada diferença significativa entre as médias obtidas para cada tratamento, foi calculado e apresentado o valor médio.

3 RESULTADOS

3.1 PARÂMETROS DE CRESCIMENTO E CONCENTRAÇÕES CRÍTICAS DE TOXIDEZ

As variáveis massa fresca de parte aérea (MFPA) e da raiz tuberosa (MFRT), massa seca de folhas (MSFolhas), pecíolos (MSPecíolos), raiz tuberosa (MSRT) e raízes (MSRaízes) da beterraba diminuíram com o aumento das concentrações de Cu na solução nutritiva (Tabela 1). As maiores médias observadas para MFPA, MFRT, MSFolhas, MSPecíolos e MSPA ocorreram na concentração de Cu de $0,52 \text{ mg L}^{-1}$, enquanto as menores médias foram verificadas na maior concentração de Cu (Figura 2 a, b, c). Quando comparadas as produções de massa da menor e da maior concentração de Cu, observou-se redução de 55, 52, 56, 60 e 57% para as variáveis MFPA, MFRT, MSFolhas, MSPecíolos e MSPA, respectivamente. A relação entre a produção de massa seca da parte aérea, calculada a partir da soma de MSFolhas + MSPecíolos, e a produção de massa seca das raízes, calculada pela soma entre MSRT + MSRaiz, diminuiu de 0,62 no tratamento sem adição de Cu para 0,41 na concentração de $2,52 \text{ mg Cu L}^{-1}$ de solução nutritiva.

Na cultura do repolho, as variáveis de crescimento MSCaule e MSRaízes não apresentaram diferenças entre os tratamentos aplicados na solução nutritiva. As variáveis MFPA, MFCabeça, MSPA, MSFolhas e MSCabeça diminuíram com o aumento das concentrações de Cu na solução nutritiva (Tabela 2), sendo esta redução de 30, 47, 16, 19 e 28 %, respectivamente, entre o tratamento sem adição de Cu e a maior concentração de Cu (Figura 2 a, b, c).

As concentrações críticas de toxidez de Cu na solução nutritiva (CCT) para a produção da massa seca da parte aérea apresentaram comportamento diferenciado entre as espécies (Tabela 3). A CCT foi atingida na concentração de Cu de 1,43 mg Cu L⁻¹ na produção de raízes tuberosas de beterraba e na concentração 1,59 mg Cu L⁻¹ na produção de cabeças de repolho. A CCT e a CT₂₅ da parte aérea foram 54,9% e 50% maiores na cultura do repolho em relação à cultura da beterraba. As concentrações de Cu requeridas para reduzir a produção de massa seca de folhas, pecíolos e raízes e da parte aérea da beterraba em 50% (CT₅₀) foram 2,38; 2,24; 2,10; e 2,33 mg Cu L⁻¹, respectivamente. Já a CT₅₀ da cultura do repolho não foi obtida para nenhuma das variáveis avaliadas, bem como não foi obtida para as raízes tuberosas da cultura da beterraba.

3.2 CONCENTRAÇÃO E ACÚMULO DE COBRE EM ÓRGÃOS

As concentrações de Cu na massa seca de folhas, pecíolos, raiz tuberosa e raízes da beterraba aumentaram com o aumento das concentrações de Cu na solução nutritiva (Tabela 1; Figuras 2 d, e). Na beterraba os teores máximos de Cu nas folhas, pecíolos, raiz tuberosa e raízes foram de 58,97; 31,86; 50,57 e 1365,08 mg Cu kg⁻¹ de massa seca, obtidos nas concentrações ajustadas de 2,07; 2,52; 1,73 e 2,40 mg Cu L⁻¹ de solução nutritiva, respectivamente. Os aumentos percentuais das concentrações de Cu observados nas folhas, pecíolos, raiz tuberosa e raízes, quando comparados as concentrações máximas aos mínimos observados no tratamento sem adição de Cu na solução nutritiva (0,0 mg Cu L⁻¹), corresponderam a 722, 218, 318 e 2509%, respectivamente.

O acúmulo total de Cu nas plantas de beterraba foi maior na concentração de 1,5 mg Cu L⁻¹, sendo 425% maior que o acúmulo observado no tratamento sem adição de Cu via solução nutritiva. Por outro lado, em concentrações de Cu na solução nutritiva superiores ao ponto de máxima ajustado ocorreu diminuição do acúmulo total de Cu, com redução de 38,1% na maior concentração de Cu.

As concentrações de Cu na massa seca de folhas, da cabeça, do caule e das raízes do repolho aumentaram quadraticamente (Tabela 2; Figura 3 d, e). As concentrações máximas ajustadas de Cu nas folhas, cabeça e raízes foram na maior concentração de Cu na solução nutritiva (2,52 mg Cu L⁻¹), com 46,18; 42,25 e 995,53 mg de Cu kg⁻¹ de massa seca, respectivamente. O caule apresentou a maior concentração de Cu na concentração de 1,75 mg Cu L⁻¹, com 63,06 mg de Cu kg⁻¹ de massa seca. Quando comparadas as concentrações de Cu na massa seca das folhas, cabeça, caule e raízes no tratamento sem adição de Cu (0,0 mg de Cu L⁻¹), as respectivas concentrações máximas ajustadas foi observado aumento de 234, 76, 518 e 3659%, respectivamente.

Na cultura do repolho, o Cu acumulado em órgãos, com exceção da cabeça, diferiu e aumentou de acordo com o aumento das concentrações de Cu na solução (Tabela 2; Figura 3 f). As concentrações máximas nas folhas e raízes, assim como o acúmulo total de Cu foram observados na concentração 2,52 mg Cu L⁻¹, os quais foram de 4,41; 10,78; e 17,99 mg planta⁻¹, respectivamente. Estes conteúdos correspondem a um aumento respectivo de 161, 6.242, e 411%, quando comparados aos obtidos no tratamento sem adição de Cu na solução nutritiva. O caule apresentou o maior conteúdo de Cu na concentração 1,72 mg Cu L⁻¹, com 1,105 mg planta⁻¹.

3.3 PIGMENTOS FOTOSSINTÉTICOS E PARÂMETROS BIOQUÍMICOS

Os teores de clorofila *a*, clorofila *b*, carotenóides e clorofila total nas folhas de plantas de beterraba e repolho não diferiram entre as concentrações de Cu (Tabela 1 e 2). Os teores médios obtidos nas folhas de beterraba foram de 0,836; 0,459; 0,267 e 1,295 mg g⁻¹ de massa fresca de folhas (Tabela 1). Nas folhas de repolho foram de 0,779; 0,463; 0,254 e 1,242 mg g⁻¹ de massa fresca de folhas (Tabela 2) para os teores de clorofila *a*, clorofila *b*, carotenóides e clorofila total, respectivamente. As relações clorofila *a*/clorofila *b* e carotenóides/clorofila total da beterraba não diferiram entre as concentrações de Cu (Tabela 1). As relações de clorofila *a*/clorofila *b* e carotenóides/clorofila total no repolho (Tabela 2) diferiram entre as concentrações de Cu. Mas, somente a relação carotenóides/clorofila total foi maior nas folhas das plantas cultivadas na solução sem adição de Cu.

As médias referentes à atividade enzimática da POD nas folhas de beterraba diferiram e aumentaram com o aumento das concentrações de Cu na solução, sendo os valores mínimo e máximo observados nas concentrações de 0,0 e 2,52 mg Cu L⁻¹, respectivamente. As médias

obtidas para os níveis de TBARs, atividade da enzima SOD e concentração de H_2O_2 nas folhas das plantas cultivadas em diferentes concentrações de Cu não diferiram (Tabela 1).

Nas folhas de repolho se observou diferença apenas para a atividade da enzima SOD, que aumentou com o aumento das concentrações de Cu na solução (Tabela 2). A máxima atividade da SOD foi observada na maior concentração de Cu na solução nutritiva (2,52 mg $Cu L^{-1}$). Os níveis de TBARs, a atividade da enzima POD e as concentrações de H_2O_2 não apresentaram respostas às concentrações de Cu adicionadas na solução nutritiva.

4 DISCUSSÃO

A diminuição dos parâmetros de crescimento da parte aérea nas culturas da beterraba e do repolho, com exceção do caule, com o aumento das concentrações de Cu (Figuras 2 a, b, c e Figuras 3 a, b, c) pode ser atribuída a inibição da divisão e alongação celular causada pelo aumento das concentrações de Cu nesses tecidos (Figuras 2 d, e; Figuras 3 d, e) (DEY et al., 2014; TIECHER et al., 2018). Na beterraba, cultura mais afetada pelo aumento das doses de Cu, a redução do crescimento da parte aérea também pode estar associada à diminuição do crescimento radicular, ocasionado pelo aumento do Cu em solução (FLORES-CÁCERES et al., 2015). Isso ocorre devido ao contato direto das raízes com os íons de Cu, presentes em concentrações tóxicas no seu meio de crescimento, e a longa exposição do sistema radicular ao Cu (LIU et al., 2014; SANCHES-PARDO et al., 2014). Nesses casos, a absorção de água e nutrientes é dificultada pelos elevados teores de Cu na solução e no tecido radicular, reduzindo o crescimento e desenvolvimento das plantas (MARSCHNER, 2012; AMBROSINI et al., 2015; CUBA-DÍAZ et al., 2017), o que pode ser indicado pela redução da relação parte aérea/raízes das plantas (PALM et al., 2017).

Na cultura do repolho, as raízes não tiveram seu crescimento prejudicado pelas elevadas concentrações de Cu, o que pode ser atribuído ao alto poder de regeneração do sistema radicular e, especialmente, pelo potencial de tolerar e acumular altos teores deste elemento nas raízes (RADULESCU et al., 2013). Essa maior tolerância pode ocorrer por causa da diluição do Cu, visto que foi observada maior produção de biomassa das raízes na cultura do repolho, refletindo em menor concentração de Cu no tecido foliar em relação ao verificado na beterraba (Figuras 2 d e Figura 3 d). Ainda, devido a alta afinidade do Cu por grupos carboxílicos presentes na parede celular, parte do Cu pode ter sido retido no apoplasto das raízes, diminuindo a concentração no simplasto e, por consequência, a quantidade de Cu

transportada para outros tecidos é reduzida (AMBROSINI et al., 2015; AMBROSINI et al., 2018; COMIM et al., 2018).

A exsudação radicular de compostos orgânicos pode alterar a disponibilidade de Cu e contribuir na redução da absorção deste elemento pelas raízes das plantas, através da alteração do pH da solução na rizosfera (BRAVIN et al., 2009) ou da complexação do Cu com compostos orgânicos (BRUNETTO et al., 2016). Alguns ácidos orgânicos como o citrato, malato e succinato, que são encontrados em raízes de plantas de repolho (DECHASSA e SCHENCK, 2004) e beterraba (LOPEZ-MILLAN et al., 2000), quando exsudados podem ligar-se ao Cu devido sua alta afinidade pelo elemento (DE CONTI et al., 2016). Essa ligação Cu-ácidos orgânicos, aliada ao processo de alcalinização da rizosfera, modificam a solubilidade do Cu por meio da alteração da distribuição das suas espécies químicas, reduzindo o potencial tóxico do metal às culturas (PEREZ-ESTEBAN et al., 2014).

As raízes desempenham papel importante na prevenção da ocorrência de teores excessivos de Cu na parte aérea, especialmente nas folhas. Isso ocorre por meio do acúmulo de parte do Cu nas raízes, diminuindo a sua translocação para a parte aérea (TIECHER et al., 2018). As concentrações de Cu observados nas raízes das plantas de beterraba e repolho aumentaram com a concentração de Cu em solução. Esse aumento pode ocorrer devido à produção intracelular de ácidos orgânicos, como o citrato (MURPHY et al., 1999; KELLER et al., 2015), e fitoquelatinas que atuam no citosol. Através da quelação dos íons metálicos, mecanismo de defesa mais importante em Brassicaceas (MOURATO et al., 2015), os metais quelados são posteriormente sequestrados e compartimentalizados no vacúolo, evitando efeitos prejudiciais ao metabolismo das células (JAN; PARRAY, 2016; TIECHER et al., 2018).

As raízes das plantas de beterraba cultivadas na solução com concentração de 2,52 mg de Cu L⁻¹ apresentaram aumento do diâmetro das raízes e coloração bronzeada (Figura 4). Isso pode ter ocorrido devido ao excesso de Cu nos tecidos radiculares, o que pode causar mudanças em regiões distais do ápice radicular, aumentando o diâmetro em áreas dos cilindros corticais e vasculares das raízes (MICHAUD et al., 2008; AMBROSINI et al., 2015). Além disso, o aumento do diâmetro das raízes pode estar relacionado à inibição do crescimento das raízes por causa de distúrbios na diferenciação da endoderme e lignificação prematura do tecido cortical (AMBROSINI et al., 2015; KOVÁČ et al., 2018). Isto pode ainda estar associado à presença do Cu no citosol, sendo o excesso de Cu responsável pela geração de radicais OH[•] via reações de Fenton e Haber-Weiss (RODRIGO-MORENO et al., 2013; GIROTTO et al., 2013). Normalmente, a geração das EROs, ativa o influxo de Ca²⁺ para

permitir o crescimento da raiz e, assim, aumentar a área de absorção de nutrientes (LAOHAVISIT et al., 2012). No entanto, a presença excessiva do Cu no meio de crescimento do sistema radicular e o aumento da concentração de Cu no citosol ocasionam a produção de maiores quantidades de radicais OH^- . Isto causa o aumento da abertura de canais de efluxo de K^+ , induzindo a inibição da elongação radicular e o possível colapso celular (RODRIGO-MORENO et al., 2013; RYAN et al., 2013; PALM et al., 2017).

Apesar das plantas disporem de mecanismos e estratégias para evitar que os íons metálicos absorvidos cheguem até os tecidos da parte aérea em teores excessivos, onde o excesso de Cu pode provocar interferências nos processos fotossintéticos, aumentos nas concentrações de Cu foram observados na parte aérea da beterraba e do repolho. As folhas de plantas de beterraba e repolho atingiram teores superiores a 20 mg Cu kg^{-1} de massa seca (MS), quando expostas a concentrações de Cu na solução nutritiva superiores a $0,27$ e $0,36 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente. Concentrações entre 15 a 20 mg Cu kg^{-1} de MS nas folhas são referenciados como limitantes ao crescimento de plantas sensíveis ao Cu (KABATA-PENDIAS, 2011). Isto pode ocasionar diversos distúrbios fisiológicos nas plantas, visto que a presença do Cu em altos teores no tecido foliar afeta a função de transporte da membrana e dos canais iônicos por provocar alterações das propriedades da membrana (JANICKA-RUSSAK et al., 2008). Alterações no equilíbrio nutricional de plantas expostas a altas concentrações de metais pesados são indicadas como resultados do aumento da permeabilidade não específica da membrana (CAMBROLLÉ et al., 2013). Isto contribui para o aumento da absorção e acúmulo de Cu nos tecidos das plantas (TIECHER et al., 2018), sendo que o excesso de Cu pode competir com outros cátions de mesma valência, tais como Fe e Mg, na absorção radicular, bem como por outros sítios de assimilação (XU et al., 2015).

O fator de translocação de Cu nas plantas ($\text{FT} = \text{concentração de Cu nas folhas} / \text{concentração de Cu nas raízes}$) no tratamento sem adição de Cu na solução nutritiva ($0,0 \text{ mg Cu L}^{-1}$), demonstram que as plantas de beterraba apresentam uma translocação menor que a observada nas plantas de repolho, cujos FTs foram de $0,13$ e $0,52$, respectivamente. Os FTs diminuíram drasticamente quando obtidos nas concentrações nas quais se verificou o maior teor de Cu nas raízes das plantas de beterraba e repolho, passando a apresentar FTs iguais a $0,04$. Essas observações demonstram a existência de mecanismos limitam as quantidades de Cu que são translocados para a parte aérea das plantas, principalmente para as folhas, permitindo classificar ambas as culturas como não hiperacumuladoras de Cu (RASCIO; NAVARI-IZZO, 2011). Isso também pode ser constatado por meio das concentrações de Cu nos diferentes tecidos das plantas. O cultivo de plantas de beterraba na

maior concentração de Cu na solução nutritiva resultou na seguinte tendência de concentrações de Cu nos tecidos: raízes > folhas > raiz tuberosa > pecíolo, enquanto para a cultura do repolho foi a seguinte: raízes > caule > folhas > cabeça.

O total de Cu acumulado por plantas de beterraba e repolho e nos diferentes órgãos foi influenciado pela redução do crescimento das plantas (produção de massa seca) devido ao aumento das concentrações de Cu na solução e também pela limitação da translocação do Cu das raízes para os demais tecidos. Nas plantas de beterraba, o maior acúmulo de Cu na planta (total) foi observado na concentração de $1,5 \text{ mg Cu L}^{-1}$, com $3,15 \text{ mg planta}^{-1}$, sendo a raiz tuberosa responsável por 42,5%; raízes por 36,3% e folhas por 16,5% do Cu acumulado. Nas raízes tuberosas o maior acúmulo está diretamente relacionado à maior produção de biomassa (Figura 2 b), enquanto nas raízes isso pode ter ocorrido devido às maiores concentrações de Cu nesse tecido. Nas plantas de repolho o maior acúmulo total é observado na maior concentração de Cu ($2,52 \text{ mg Cu L}^{-1}$), o que indica a maior tolerância do repolho ao aumento das concentrações de Cu em solução. As raízes do repolho representam 60% do Cu acumulado nas plantas, o que pode ser uma estratégia das plantas para limitar a translocação de Cu para as folhas da planta. Apesar do aumento dos teores de Cu nas folhas da cabeça do repolho de acordo com o aumento de Cu em solução, o Cu acumulado nesse órgão não apresentou diferença estatística, o que pode ser atribuído a diminuição do crescimento deste órgão, avaliado através da MSCabeça.

A partir das tendências de acúmulo e considerando as reduções da produção de biomassa de raízes tuberosas e cabeças de repolho, bem como os teores Cu presentes nesses tecidos, é possível estimar a média diária de ingestão de Cu, por meio de seu consumo. Portanto, considerando um consumo diário de 50 gramas, que se aproxima da ingestão per capita brasileira (IBGE, 2008), de cada uma das hortaliças isoladamente, e comparando à ingestão diária de Cu recomendada (IDR) para adultos, que é de 0,9 mg no Brasil (BRASIL, 2005) e nos EUA (FDA, 2016), verifica-se que as raízes tuberosas de beterraba, oriundas da concentração de $1,5 \text{ mg Cu L}^{-1}$ de solução nutritiva, representarão a ingestão de 23% da IDR, enquanto o consumo de cabeças de repolho de plantas cultivadas na concentração $2,52 \text{ mg Cu L}^{-1}$ representará cerca de 16,5 % da IDR. Porém, estes valores podem ser facilmente aumentados por consumidores mais adeptos a dietas que incluem essas hortaliças em maiores porções, podendo representar risco a sua saúde, pois provavelmente ocorrerá uma extrapolação da IDR do elemento, pois o mesmo pode estar presente em outros alimentos pertencentes à dieta.

As concentrações críticas de toxidez de Cu na solução nutritiva (CCT) e a CT_{25} foram 54,9 e 50% maiores para a parte aérea do repolho em relação às observadas na beterraba, respectivamente. A CT_{50} não foi atingida nas raízes tuberosas na beterraba, enquanto a mesma não foi atingida para nenhum tecido em plantas de repolho. Isto ocorreu pelo fato das possíveis concentrações críticas superarem as concentrações de Cu testadas, indicando que essa cultura tolera maiores concentrações de Cu em relação à beterraba. Isso está relacionado aos mecanismos de alívio dos danos resultantes do excesso de Cu no meio de cultivo das plantas, dentre os quais se pode destacar a complexação/quelação e a posterior compartimentalização no vacúolo das células (MOURATO et al., 2015), bem como através da ação de enzimas antioxidantes (KARIMI et al., 2012; MIOTTO et al., 2014).

A atividade da enzima peroxidase (POD) demonstrou-se aumentada nas folhas das plantas de beterraba (Tabela 1), enquanto a atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) aumentou nas folhas das plantas de repolho (Tabela 2), com o aumento da concentração de Cu na solução nutritiva. Isso pode ser atribuído ao aumento na produção de EROs via reações de Haber-weiss, catalizadas pelos elevados teores de Cu no tecido das folhas (KARIMI et al., 2012; MIOTTO et al., 2014; TIECHER et al., 2018). Em resposta à produção excessiva de EROS, alguns genes de defesa podem ter induzido a expressão e aumento da atividade das enzimas POD nas folhas da beterraba e SOD nas folhas do repolho, resposta essa que pode diferir entre as espécies de plantas, bem como entre tecidos na mesma planta (PASSARDI et al., 2005; ISERI et al., 2011). Isso indica o potencial de alívio dos danos oxidativos por parte destas enzimas, sendo a SOD atuante na conversão do radical superóxido ($O_2^{\cdot -}$) em H_2O_2 (GILL; TUTEJA, 2010; YOU; SHAN, 2015), a qual é frequentemente correlacionada com o aumento da tolerância da planta (SHARMA et al., 2012). Já a enzima POD pode converter diretamente H_2O_2 em H_2O e O_2 e, assim, desempenha uma função importante nas respostas a estresses abióticos e bióticos (KARUPPANAPANDIAN et al., 2011; YU et al., 2017), desempenhando um papel importante na supressão de danos celulares (WU et al., 2014), contribuindo para a não ocorrência de necroses no tecido foliar, mesmo na presença de altos teores de Cu.

Os resultados dessa pesquisa indicam que em cultivos de repolho e beterraba realizados em solos com elevados teores de Cu, o crescimento das plantas depende das quantidades desse elemento liberadas na solução do solo. A partir da concentração do elemento na solução do solo, poder-se-á inferir através da CCT determinada o potencial de toxidez para ambas as espécies.

5 CONCLUSÃO

As plantas de beterraba e repolho apresentaram mecanismos para acumular Cu nas raízes e translocar quantidades reduzidas deste elemento para os demais órgãos da parte aérea. No entanto, a concentração de Cu nas folhas, pecíolos e raízes tuberosas das plantas de beterraba e folhas, cabeça e caule das plantas de repolho aumentaram com as concentrações de Cu na solução, atingindo níveis considerados fitotóxicos, o que contribuiu para a redução do crescimento das plantas de beterraba e repolho. Apesar das concentrações de Cu nas folhas serem consideradas tóxicas, não ocorreram alterações nas concentrações de pigmentos fotossintéticos, o que pode estar relacionado à presença de mecanismos inativadores de Cu a nível celular e a ação das enzimas antioxidantes nas folhas das plantas, evitando o avanço dos efeitos deletérios sobre os demais parâmetros avaliados.

A raiz tuberosa da beterraba apresentou maior acúmulo de Cu, enquanto o acúmulo de Cu na cabeça de repolho demonstrou não ser influenciado pela concentração de Cu na solução. Assim, o consumo in natura de raízes tuberosas de beterraba e do tecido da cabeça de repolho pode oferecer risco potencial à saúde de seus consumidores, dependendo da sua concentração nos tecidos e, principalmente, pela quantidade incluída na dieta diária.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, J. Y., KEEN, C. L. Copper, oxidative stress, and human health. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 26, p. 268-298. 2005.

ADREES, M. et al. The effect of excess copper on growth and physiology of important food crops: a review. **Environ. Sci. Pollut.**, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s11356-015-4496-5>.

ALI, M., SHAKRANI, S. Soil and Soilless Cultivation Influence On Nutrients And Heavy Metals Availability In Soil And Plant Uptake. **International Journal of Applied Science and Technology**, v. 1, n. 5, p. 154-160, 2011.

ALI, S. et al. Impact of copper toxicity on stone-head cabbage (*Brassica oleracea* var. capitata) in hydroponics. **PeerJ**, v. 3, 2015. DOI: [e1119.http://doi.org/10.7717/peerj.1119](http://doi.org/10.7717/peerj.1119).

AMBROSINI, V.G. et al. 2015. Reduction of copper phytotoxicity by liming: a study of the root anatomy of young vines (*Vitis labrusca* L.). **Plant Physiol. Biochem.**, v. 96, p. 270–280, 2015.

- AMBROSINI, V. G. et al. High copper content in vineyard soils promotes modifications in photosynthetic parameters and morphological changes in the root system of 'Red Niagara' plantlets. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 128, p. 89-98, 2018.
- BRASIL. Resolução RDC nº 269, de 22 de setembro de 2005. Regulamento técnico sobre a ingestão diária recomendada (idr) de proteína, vitaminas e minerais". **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Disponível em http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/394219/RDC_269_2005.pdf/2e95553c-a482-45c3-bdd1-f96162d607b3. Acesso em: 12 mai 2018.
- BRUNETTO, G. et al. Copper accumulation in vineyard soils: Rhizosphere processes and agronomic practices to limit its toxicity. **Chemosphere**, v. 162, p. 293-307, 2016.
- BRUNETTO, G. et al. Copper and zinc fractions in the profile of an Inceptisol cultivated with apple in southern Brazil. **Bragantia**, v. 1, p. 1-15, 2018.
- BRAVIN, M. N. et al. Root-induced changes in pH and dissolved organic matter binding capacity affect copper dynamic speciation in the rhizosphere. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 84, p. 256-268, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.gca.2012.01.031>.
- BURKHEAD, J. L. et al. Copper homeostasis. **New Phytol**, v. 182, p. 799–816, 2009. DOI: [10.1111/j.1469-8137.2009.02846.x](https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.02846.x).
- CAMBROLLÉ, J. et al. Growth and photo-synthetic responses to copper in wild grapevine. **Chemosphere**, v. 93, p. 294–301, 2013.
- CHERFI A, A. S; GACI, O. Food survey: levels and potential health risks of chromium, lead, zinc and copper content in fruits and vegetables consumed in Algeria. **Food and Chemical Toxicology**, v. 70, p. 48–53, 2014.
- COMIN, J. J. et al. Liming as a means of reducing copper toxicity in black oats. **Ciência Rural**, v. 48, n. 4, 2018. DOI: <https://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20170278>.
- CUBA-DÍAZ, M. et al. Effect of copper (II) ions on morpho-physiological and biochemical variables in *Colobanthus quitensis*. **Journal of soil science and plant nutrition**, v. 17, n.2, p. 429-440, 2017.
- CUI, X. et al. Concentrations of heavy metals in suburban horticultural soils and their uptake by *Artemisia selengensis*. **Pedosphere**, v. 25, n. 6, p.878–887, 2015.
- DAVIS, R. D.; BECKETT, P. H. T.; WOLLAN, E. Critical levels of twenty potentially toxic elements in young spring barley. **Plant and Soil**, v. 49, p. 394–408, 1978.
- DALCORSO, G. et al. Nutrient metal elements in plants. **Metallomics: integrated biometal science**, v. 6, n. 10, p. 1770–88, 2014.
- DECHASSA, N.; SCHENK, M. K. Exudation of organic anions by roots of cabbage, carrot, and potato as influenced by environmental factors and plant age. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 167, n.5, p. 623-629, 2004.

DE CONTI, L. et al. Soil solution concentrations and chemical species of copper and zinc in a soil with a history of pig slurry application and plant cultivation. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 216, p. 374-386, 2016, DOI: 10.1016/j.agee.2015.09.040.

DEY, S.; MAZUMDER, P. B.; PAUL, S. B. Effect of copper on growth and chlorophyll content in tea plants (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze). **Int J Res Appl Natl Soc Sci**, v. 2, p. 223–230, 2014.

DING, Z.; LI, Y.; SUN, Q. Trace elements in soils and selected agricultural plants in the tongling mining area of China. **Int. J. Environ. Res. Public Health**, v. 25, 2018.

EL-MOSHATY, F. I. B.; PIKE, S. M.; NOVACKY, A. J.; SEHGAL, O. P. Lipid peroxidation and superoxide production in cowpea (*Vigna unguiculata*) leaves infected with tobacco ringspot virus or southern bean mosaic virus. **Physiol. Mol. Plant Pathol.** v. 43, 109-119, 1993.

EMBRAPA - Embrapa Solos. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**, Brasília: Embrapa Informação Tecnológica; Brasília, DF: Embrapa Solos, 2009. 627p.

ERDEI, A. L. Wavelength-dependent photooxidation and photoreduction of protochlorophyllide and protochlorophyll in the innermost leaves of cabbage (*Brassica oleracea* var. capitata L.). **Photosynth Res**, v. 128, p. 73–83, 2016.

FDA (Food and Drug Administration). Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc. **Report of the Panel on Micronutrients**, National Academy Press, Washington, DC, Food and Drug Administration. Dietary supplements. Center for Food Safety and Applied Nutrition. 2001. Acessado em: <https://www.fda.gov/downloads/food/guidanceregulation/guidancedocumentsregulatoryinformation/labelingnutrition/ucm513817.pdf>

FLORES-CACERES, M. et al. Specific mechanisms of tolerance to copper and cadmium are compromised by a limited concentration of glutathione in alfalfa plants. **Plant Science**, v. 233, p. 165-173, 2015.

FILGUEIRA, F. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. 3a edição. Viçosa: UFV, 2012, 418p.

GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, n. 12, p. 909–930, 2010.

GIROTTI, E. et al. Triggered antioxidant defense mechanism in maize grown in soil with accumulation of Cu and Zn due to intensive application of pig slurry. **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, v. 93, p. 145–155, 2013.

GIROTTI, E. et al. Copper availability assessment of Cu-contaminated vineyard soils using black oat cultivation and chemical extractants. **Environ. Monit. Assess.**, v. 186, p. 9051–9063, 2014.

- GRIGATTI, M.; GIORGIONI, M. E.; CIAVATTA, C. Compost-based growing media: Influence on growth and nutrient use of bedding plants. **Bioresource Technology**, v. 98, p. 3526–3534, 2007.
- HENDRY, G. A. F.; PRICE, A. H. Stress indications: chlorophylls and carotenoids. In: Hendry, G.A.F., Grime, J.P. (Eds.), **Methods in Comparative Plant Ecology. A Laboratory Manual**, Chapman & Hall, London, 1993.
- HISCOX, J. D.; ISRAELSTAM, G. F. A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. **Can. J. Bot.**, v. 57, p. 1332-1334, 1979.
- HU, W. et al. Heavy metals in intensive green-house vegetable production systems along Yellow Sea of China: levels, transfer and health risk. **Chemosphere**, v. 167, p. 82–90, 2017.
- IŞERI, O. et al. Copper-induced oxidative damage, antioxidant response and genotoxicity in *Lycopersicon esculentum* Mill. and *Cucumis sativus* L. **Plant cell reports**, v. 30, p. 1713-21, 2011. DOI: 10.1007/s00299-011-1079-x.
- JAN, S., PARRAY, J. A. Heavy Metal Uptake in Plants. In: **Approaches to Heavy Metal Tolerance in Plants**, Springer, Singapore, 2016.
- JANICKA-RUSSAK, M. et al. Response of plasma membrane H⁺-ATPase to heavy metal stress in *Cucumis sativus* roots. **J. Exp. Bot.**, v. 59, p. 3721–3728, 2008.
- KABATA-PENDIAS, A. **Trace Elements in Soils and Plants**. CRC Press, Boca Raton, Florida, 2011.
- KARIMI, P. The Effects of Excess Copper on Antioxidative Enzymes, Lipid Peroxidation, Proline, Chlorophyll, and Concentration of Mn, Fe, and Cu in *Astragalus neo-mobayenii*. **The Scientific World Journal**, v. 2012, Article ID 615670, 6 p., 2012. DOI: <https://doi.org/10.1100/2012/615670>.
- KARUPPANAPANDIAN, T. Reactive oxygen species in plants: their generation, signal transduction, and scavenging mechanisms. **Aust J Crop Sci.**, v. 5, p. 709–725, 2011.
- KELLER, C. Effect of silicon on wheat seedlings (*Triticum turgidum* L.) grown in hydroponics and exposed to 0 to 30 mM Cu. **Planta**, v. 241, p. 847–860, 2015.
- KOVÁČ, J.; LUX, A.; VACULÍK, M. Formation of a subero-lignified apical deposit in root tip of radish (*Raphanus sativus*) as a response to copper stress. **Annals of Botany**, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1093/aob/mcy013>.
- LAOHAVISIT, A. et al. Arabidopsis Annexin1 Mediates the Radical-Activated Plasma Membrane Ca²⁺- and K⁺-Permeable Conductance in Root Cells. **The Plant Cell**. 2012. DOI: 10.1105/tpc.112.097881.
- LICHTENTHALER, H. K. Chlorophylls and Carotenoids: Pigments of Photosynthetic Biomembranes. **Methods in Enzymology**, v. 148, p. 350-382, 1987. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/0076-6879\(87\)48036-1](http://dx.doi.org/10.1016/0076-6879(87)48036-1).

LIU, J. J.; WEI, Z.; LI, J. H. Effects of copper on leaf membrane structure and root ac-tivity of maize seedling. **Bot Stud.**, v. 55, p. 1–6, 2014.

LOPEZ-MILLAN, A. F. et al. Protective mechanisms in roots of iron deficient sugar beet: changes in carbon assimilation and oxygen use. **Plant Physiol.**, v. 124, p. 885–897. 2000. DOI: 10.1104/pp.124.2.885.

LORETO, F., VELIKOVA, V. Isoprene produced by leaves protects the photosynthetic apparatus against ozone damage, quenches ozone products, and reduces lipid peroxidation of cellular membranes. **Plant Physiology**, v. 127, p. 1781 – 1787, 2001.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 3.ed London: Elsevier, 2012. 643 p.

MATEOS-NARANJO, E. Assessing the effect of copper on growth, copper accumulation and physiological responses of grazing species *Atriplex halimus*: Ecotoxicological implications. **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, v. 90, p. 136–142, 2013.

MENDOZA, C. J. Eval-uation of the bioaccessible gastric and intestinal fractions of heavy metals in contaminated soils by means of a simple bioaccessibility extraction test. **Chemosphere**, v. 176, p. 81- 88, 2017.

MICHAUD, A. M.; CHAPPELLAZ, C.; HINSINGER, P. Copper phototoxicity affects root elongation and iron nutrition in durum wheat (*Triticum turgidum durum* L.). **Plant Soil**, v. 310, p. 151-165, 2008.

MIOTTO, A. et al. Copper uptake, accumulation and physiological changes in adult grapevines in response to excess copper in soil. **Plant Soil**, v. 374, p. 593–610, 2014.

MORALES, J. M. L.; RODRÍGUEZ-MONROY, M.; SEPÚLVEDA-JIMÉNEZ, G. Betacyanin accumulation and guaiacol peroxidase activity in *Beta vulgaris* L. leaves following copper stress. **Acta Soc Bot Pol.**, v. 81, p. 193–201, 2012.

MOURATO, M. P. et al. Effect of heavy metals in plants of the genus brassica **Int. J. Mol. Sci.**, v. 16, n. 8, p. 17975-17998, 2015.

MURPHY, A. S. Early copper-induced leakage of K⁺ from Arabidopsis seedlings is mediated by ion channels and coupled to citrate efflux. **Plant Physiol.**, v. 121, p. 1375–1382, 1999.

PALM, E. et al. Root potassium and hydrogen flux rates as potential indicators of plant response to zinc, copper and nickel stress. **Environmental and Experimental Botany**, v. 143, p. 38-50, 2017.

PAN, X.; WU, D.; JIANG, X. G. Levels and potential health risk of heavy metals in marketed vegetables in Zhejiang, China. **Scientific Reports**, v. 6, 2016. DOI: <http://doi.org/10.1038/srep20317>.

PASSARDI, F. et al. Peroxidases have more functions than a Swiss army knife. **Plant Cell Rep.**, v. 24, p. 255–265, 2005.

- PÉREZ-ESTEBAN, J. Soluble organic carbon and pH of organic amendments affect metal mobility and chemical speciation in mine soils. **Chemosphere**, v. 103, p. 164-171, 2014. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2013.11.055.
- RASCIO, N.; NAVARI-IZZO, F. Heavy metal hyperaccumulating plants: How and why do they do it? And what makes them so interesting? **Plant Sci.**, v. 180, p. 169–181, 2011.
- RADULESCU, C. et al. Heavy Metal Accumulation and Translocation in different parts of *Brassica oleracea* L. **Rom. J. Phys.**, v. 58, n. 9-10, p. 1337–1354, 2013.
- RODRIGO-MORENO, A. et al. Calcium- and potassium permeable plasma membrane transporters are activated by copper in Arabidopsis root tips: linking copper transport with cytosolic hydroxyl radical production. **Plant Cell Environ.**, v. 36, p. 844–855, 2013.
- RYAN, B. M. et al. Copper speciation and isotopic fractionation in plants: uptake and translocation mechanisms. **New Phytol.**, v. 199, p. 367–378, 2013.
- SANCHEZ-PARDO, B.; FERNANDEZ-PASCUAL, M.; ZORNOZA, P. Copper microlocalisation and changes in leaf morphology, chloroplast ultrastructure and antioxidative response in white lupin and soybean grown in copper excess. **J Plant Res.**, v. 127, p. 119–129, 2014.
- SHARMA P. Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions. **Journal of Botany**, v. 2012, Article ID 217037, 26 p., 2012. DOI: <https://doi.org/10.1155/2012/217037>.
- SOLYMOSI, K.; ARONSSON, H. Etioplast and Their Significance in Chloroplast Biogenesis. In: Biswal B, Krupinska K, Biswal UC, editors. **Plastid Development in Leaves During Growth and Senescence: Advances in Photosynthesis and Respiration**. Springer. p. 39–71, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-94-007-5724-0>.
- SUN, F. F. Soil threshold values of total and available cadmium for vegetable growing based on field data in Guangdong province, South China. **J Sci Food Agric.**, v. 93, p. 1967–1973, 2013.
- TAZZO, I. F. et al. Evapotranspiração do pimentão em estufa plástica estimada com dados meteorológicos externos na primavera. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. v. 16, p. 275-280, 2012.
- TIECHER, T. L. et al. Tolerance and translocation of heavy metals in young grapevine (*Vitis vinifera*) grown in sandy acidic soil with interaction of high doses of copper and zinc. **Sci. Hortic.**, v. 222, p. 203–212, 2017.
- TIECHER, T. L. et al. The interaction of high copper and zinc doses in acid soil changes the physiological state and development of the root system in young grapevines (*Vitis vinifera*), **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 148, p. 985-994, 2018.
- WU, W. et al. The Role of Antioxidant Enzymes in Adaptive Responses to Sheath Blight Infestation under Different Fertilization Rates and Hill Densities. **The Scientific World Journal**, 2014. DOI: <http://doi.org/10.1155/2014/502134>.

XU, X. et al. Changes of Essential Mineral Elements Contents in Response to Cu²⁺ Treatment in *Sagittaria sagittifolia*. **Journal of Environmental Protection**, v. 6, p. 700-709, 2015.

YOU, J.; CHAN, Z. ROS Regulation During Abiotic Stress Responses in Crop Plants. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, 2015. DOI: <http://doi.org/10.3389/fpls.2015.01092>.

YU, R. et al. Comparative transcriptomic analysis reveals the roles of ROS scavenging genes in response to cadmium in two pak choi cultivars. **Scientific Reports**, v. 7, 2017. DOI: <http://doi.org/10.1038/s41598-017-09838-2>.

ZERAIK, A. E.; SOUZA, F.S.; FATIBELLO-FILHO, O. Desenvolvimento de um spot test para o monitoramento da atividade da peroxidase em um procedimento de purificação. **Quím Nova**, v. 31, p. 731–734, 2008.

ZHU Z, et al. Silicon alleviates salt stress and increases antioxidant enzymes activity in leaves of salt stressed cucumber (*Cucumis sativus* L.). **Plant Science**, v. 167, p. 527–533, 2004.

Figura 1 - Dados de temperatura média do ar (a) e a umidade relativa do ar (b) do ambiente de cultivo obtidas por meio de dois registradores eletrônicos (NOVUS, LogBox-RHT-LCD, Brasil), instalados sobre as plantas.

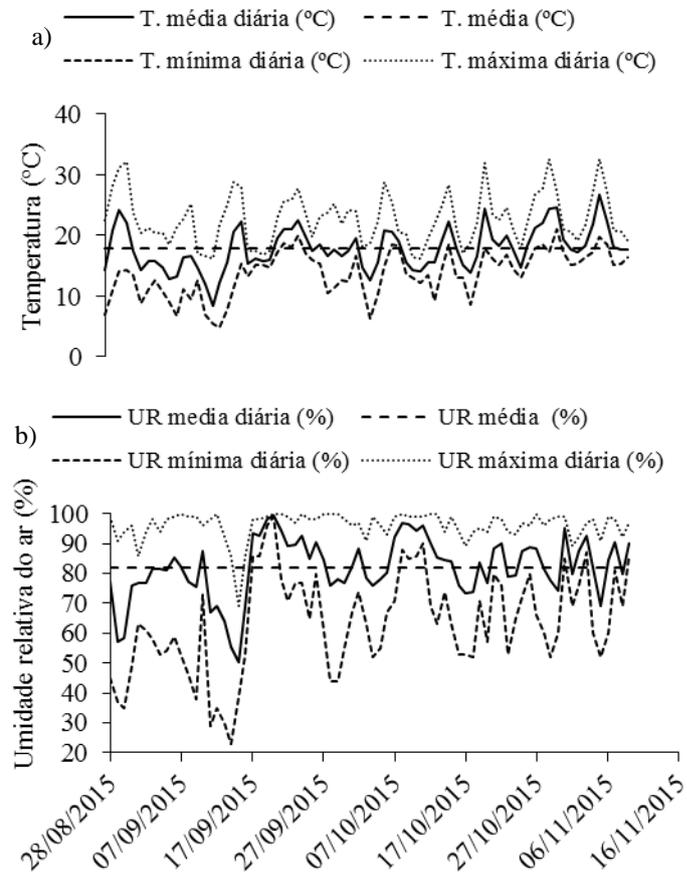


Tabela 1 - Parâmetros morfológicos de crescimento, pigmentos fotossintéticos, teores de Cu acumulado e parâmetros bioquímicos em plantas de beterraba, da cultivar “Katrina”, cultivada em diferentes concentrações de Cu na solução nutritiva.

Parâmetros avaliados	Significância	Equação ajustada/média	R ²	CV (%)
<i>Parâmetros morfológicos de crescimento</i>				
MFPA	*	$\hat{y} = 628,40 - 20,125x - 46,839x^2$	0,95	18,26
MFRT	*	$\hat{y} = 400,53 - 9,870x - 29,133x^2$	0,98	20,60
MSPA	*	$\hat{y} = 19,995 - 0,870x - 1,460x^2$	0,83	26,27
MSFolhas	*	$\hat{y} = 12,250 + 0,130x - 1,137x^2$	0,77	25,21
MSPecíolos	*	$\hat{y} = 7,671 - 0,674x - 0,467x^2$	0,92	31,11
MSRT	*	$\hat{y} = 30,402 + 0,436x - 1,799x^2$	0,99	11,01
MSRaízes	*	$\hat{y} = 1,607 - 0,079x - 0,144x^2$	0,88	23,09
<i>Teor de Cu</i>				
Folhas	**	$\hat{y} = 7,17 + 49,99x - 12,06x^2$	0,98	3,87
Pecíolos	**	$\hat{y} = 10,02 + 15,60x - 2,75x^2$	0,97	8,66
Raízes tuberosas	**	$\hat{y} = 12,10 + 44,42x - 12,82x^2$	0,99	3,54
Raízes	**	$\hat{y} = 52,31 + 1,095,51x - 228,55x^2$	0,91	12,23
<i>Cu acumulado</i>				
Folhas	**	$\hat{y} = 0,13 + 0,53x - 0,18x^2$	0,97	24,51
Pecíolos	ns	0,123		34,82
Raízes tuberosas	**	$\hat{y} = 0,38 + 1,33x - 0,46x^2$	0,97	11,06
Raízes	**	$\hat{y} = 0,01 + 1,46x - 0,47x^2$	0,93	27,88
Total	**	$\hat{y} = 0,60 + 3,41x - 1,14x^2$	0,98	15,56
<i>Pigmentos fotossintéticos</i>				
Clorofila a	ns	0,836		23,10
Clorofila b	ns	0,459		25,86
Carotenóides	ns	0,267		23,45
Clorofila total	ns	1,295		23,94
Clorofila a/Clorofila b	ns	1,821		5,65
Carotenóides/Clorofila total	ns	0,206		3,45
<i>Parâmetros bioquímicos</i>				
Tbars	ns	1,045		27,83
SOD	ns	11,367		39,77
POD	**	$\hat{y} = 0,21 + 0,24x + 0,003x^2$	0,91	29,69

(continua)

H ₂ O ₂	ns	0,846	21,73
-------------------------------	----	-------	-------

Significância do Teste F: ns=não significativo; * =significativo a 5%; ** =significativo a 1%.

Figura 2 - Massa fresca de parte aérea (MFPA) e raízes tuberosas (MFRT) (a), massa seca de raízes tuberosas (MSRT), parte aérea (MSPA) e folhas (MSFolhas) (b), massa seca de pecíolos (MSPECÍolos) e de raízes (MSRaízes) (c), teores de Cu nos diferentes tecidos (d, e) e Cu total e acumulado nos diferentes órgãos (f) de plantas de beterraba, cultivar “Katrina”, cultivadas em diferentes concentrações de Cu na solução nutritiva. Barras verticais representam erro padrão.

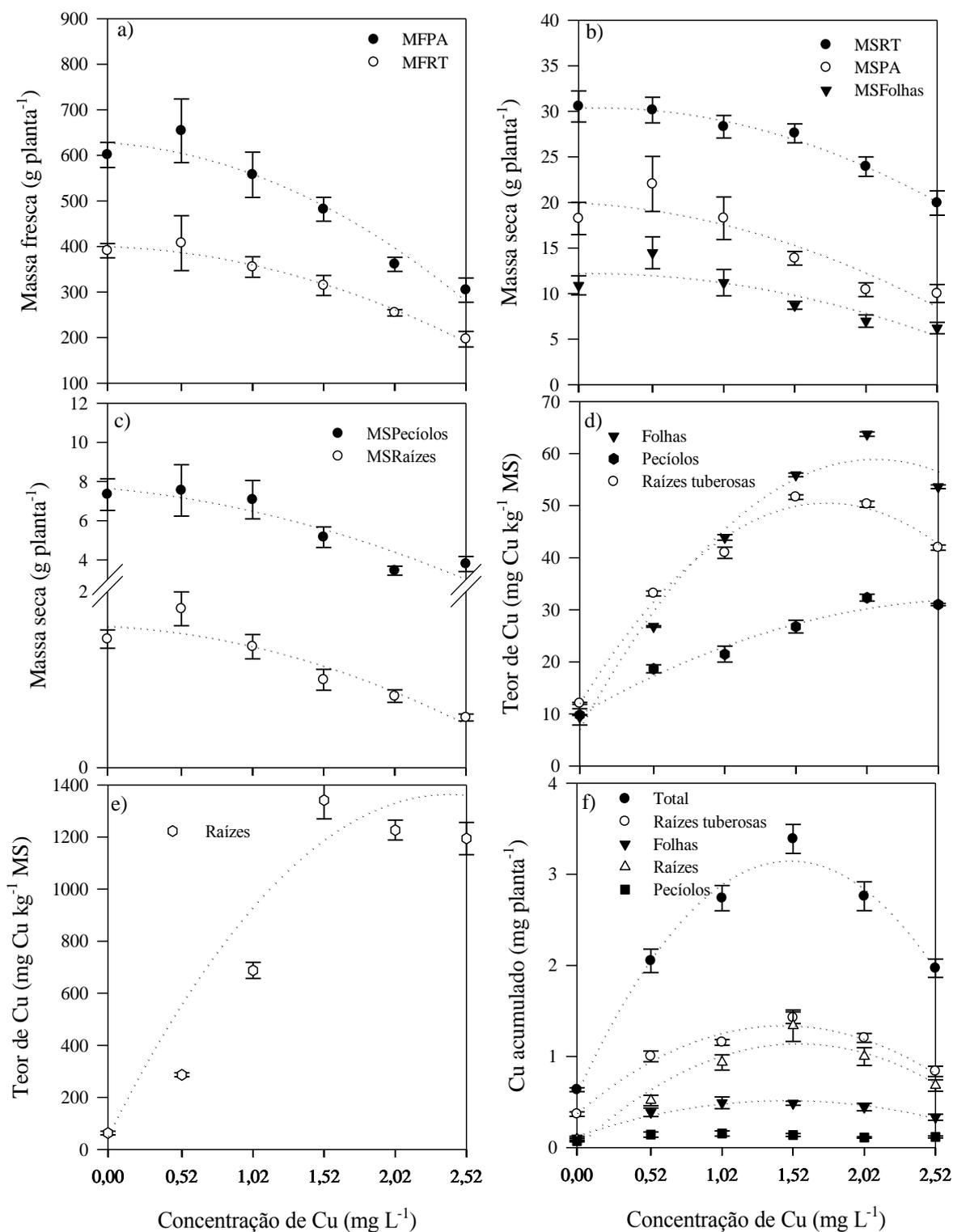


Tabela 2 - Parâmetros morfológicos de crescimento, pigmentos fotossintéticos, teores de Cu acumulado e parâmetros bioquímicos em plantas de repolho, da cultivar “Fuyutoyo”, cultivada em diferentes concentrações de Cu na solução nutritiva.

Parâmetros avaliados	Significância	Equação ajustada/média	R ²	CV (%)
<i>Parâmetros morfológicos de crescimento</i>				
MFPA	**	$\hat{y} = 2.558,94 - 73,02x - 95,07x^2$	0,98	13,52
MFCA	**	$\hat{y} = 1.141,97 - 192,34x - 9,22x^2$	0,88	12,16
MSPA	**	$\hat{y} = 197,47 - 11,48x - 2,03x^2$	0,90	7,32
MSFolhas	**	$\hat{y} = 117,77 - 13,69x + 1,80x^2$	0,92	9,46
MSCA	**	$\hat{y} = 62,58 + 1,47x - 3,40x^2$	0,83	11,99
MSCaule	ns	11,30		8,60
MSRaízes	ns	17,04		14,25
<i>Teor de Cu</i>				
Folhas	**	$\hat{y} = 13,80 + 17,69x - 1,92x^2$	0,97	6,99
Cabeça	**	$\hat{y} = 23,91 + 3,02x + 1,69x^2$	0,96	5,97
Caule	**	$\hat{y} = 10,20 + 60,22x - 17,15x^2$	0,96	9,50
Raízes	**	$\hat{y} = 26,48 + 482,07x - 38,70x^2$	0,97	8,17
<i>Cu acumulado</i>				
Folhas	**	$\hat{y} = 1,69 + 1,61x - 0,21x^2$	0,97	12,27
Cabeça	ns	1,747		13,33
Caule	**	$\hat{y} = 0,16 + 1,10x - 0,32x^2$	0,98	14,18
Raízes	**	$\hat{y} = 0,17 + 5,90x - 0,67x^2$	0,96	23,37
Total	**	$\hat{y} = 3,52 + 8,87x - 1,24x^2$	0,97	14,97
<i>Pigmentos fotossintéticos</i>				
Clorofila <i>a</i>	ns	0,779		16,25
Colorofila <i>b</i>	ns	0,463		17,26
Carotenóides	ns	0,254		21,22
Clorofila total	ns	1,242		14,37
Clorofila <i>a</i> /Clorofila <i>b</i>	*	s. a (0,193)		6,10
Carotenóides/Clorofila total	*	$\hat{y} = 0,21 - 0,03x + 0,01x^2$	0,84	3,45
<i>Parâmetros bioquímicos</i>				
Tbars	ns	0,836		28,86
SOD	**	$\hat{y} = 6,97 - 0,83x + 1,71x^2$	0,66	15,58
POD	ns	4,828		36,13

(continua)			
H_2O_2	ns	0,394	12,99

Significância do Teste F: ns=não significativo; * =significativo a 5%; ** =significativo a 1%.; s. a= sem ajuste matemático até 2° grau.

Figura 3 - Massa fresca de parte aérea (MFPA) e de cabeça (MFCabeça) (a), massa seca de parte aérea (MSPA) e folhas (MSFolhas) (b), massa seca de cabeça (MSCabeça), caule (MSCaule) e de raízes (MSRaízes) (c), teores de Cu nos diferentes órgãos (d, e) e Cu total e acumulado nos diferentes órgãos (f) em plantas de repolho, cultivar “Fuyutoyo”, cultivado em diferentes concentrações de Cu na solução nutritiva. Barras verticais representam erro padrão.

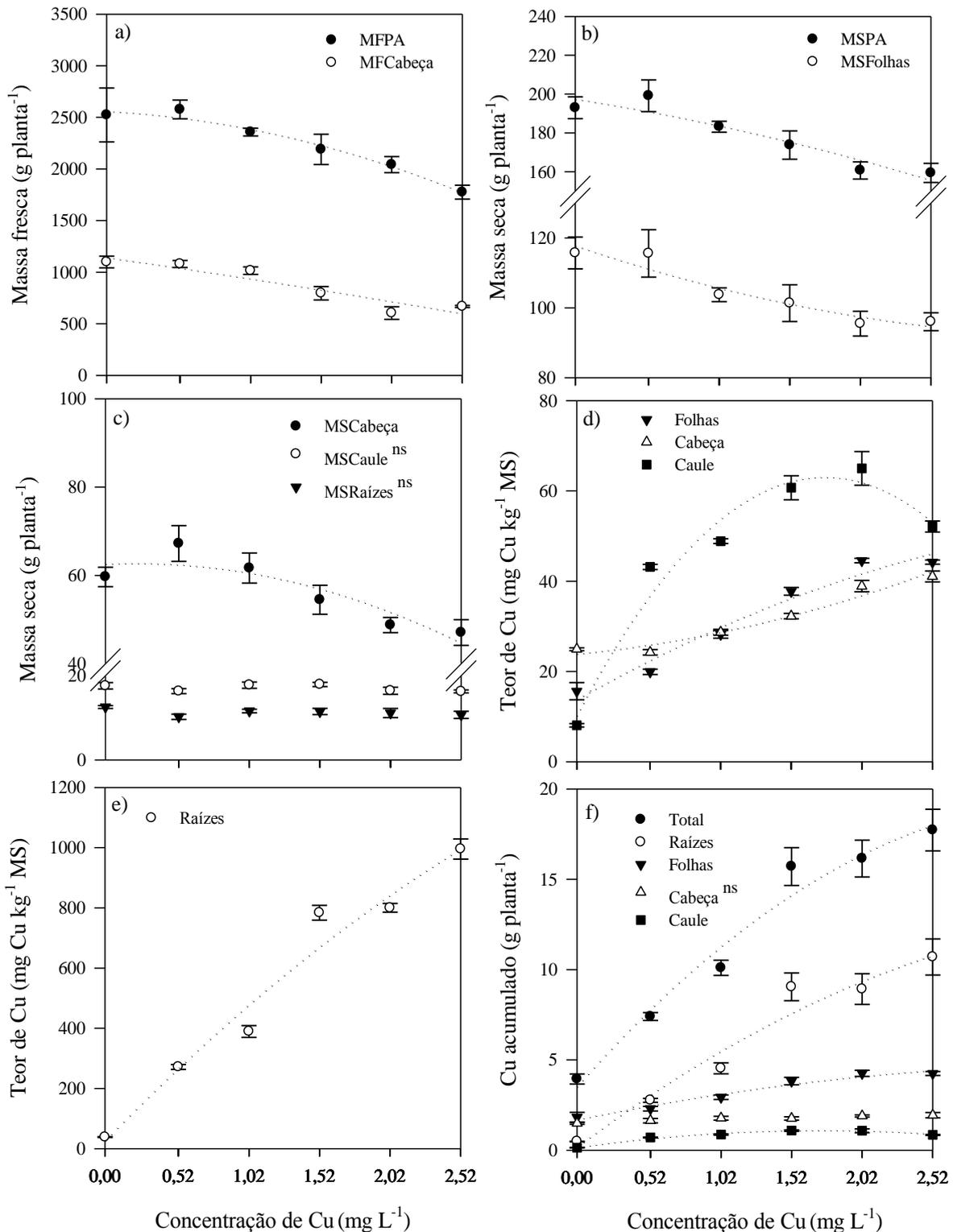


Tabela 3 - Concentrações críticas de toxidez de Cu para plantas de beterraba cultivar “Katrina”, e para plantas de repolho cultivar “Fuyutoyo”, cultivados em diferentes concentrações de Cu na solução nutritiva.

Concentrações críticas	Beterraba					Repolho		
	Folhas	Pecíolos	Raízes tuberosas	Raízes	Parte aérea	Folhas	Cabeça	Parte aérea
	Cu (mg L ⁻¹)							
CCT ¹	1,10	0,76	1,43	0,82	0,91	1,0	1,59	1,41
CT ₂₅ ²	1,70	1,43	2,18	1,42	1,58	n. a	n. a	2,37
CT ₅₀ ³	2,38	2,24	n. a	2,10	2,33	n. a	n. a	n. a

1. Concentração de Cu na solução requerida para inibir a matéria seca em 10%;
 2. Concentração de Cu na solução requerida para inibir a matéria seca em 25%.
 3. Concentração de Cu na solução requerida para inibir a matéria seca em 50%.
- n. a= concentração não atingida.

Figura 4 – Raízes tuberosas e raízes de plantas de beterraba cultivadas em solução nutritiva com concentrações de 0,52 (a) e 2,52 mg Cu L⁻¹ (b).



3 DISCUSSÃO GERAL

Os teores de Cu presentes nos solos explorados pela agricultura são originários do teor natural acrescido de toda e qualquer adição do elemento de forma intencional ou não. Os aumentos nos teores de Cu no solo verificados em áreas cultivadas com hortaliças e as alterações dos teores de Cu na solução do solo, na fração disponível e Cu total, tanto em áreas de CA, como de CP, são resultantes dos tratos culturais e manejos aplicados nas plantas e no solo. Adições intencionais podem ser consideradas aquelas realizadas para contornar deficiências nutricionais de Cu observadas em plantas ou para sua prevenção, quando apontadas por análises químicas do solo ou ainda para reposição dos teores absorvidos pelas plantas e exportados para fora do ambiente de cultivo (área de solo). Entretanto, adições não intencionais são aquelas realizadas além do atendimento dos objetivos supracitados, sendo possivelmente as responsáveis pelos maiores incrementos de Cu observados nas áreas cultivadas com hortaliças do presente trabalho. Essa constatação foi possível a partir das respostas dos proprietários das 25 propriedades amostradas para o diagnóstico dos teores de Cu (ANEXO A).

Na maioria das 25 propriedades amostradas, as adubações são realizadas sem o conhecimento dos teores de nutrientes existentes no solo ou ainda desconsiderando os resultados obtidos pelas análises de solo, quando realizadas. Geralmente, as análises realizadas têm como principal objetivo a determinação dos macronutrientes (N, P, K, Ca e Mg), estando, portanto, os micronutrientes, como o Cu, não inclusos no roll de elementos analisados. No entanto, os resultados das análises realizadas nas amostras referentes ao ambiente cultivo protegido (CP) (Tabela suplementar 2, Estudo 1), permitiram a interpretação de acordo com as recomendações técnicas constantes no Manual de Adubação e Calagem (CQFS-RS/SC, 2004), o qual foi fornecido aos produtores em contrapartida à permissão para realização das amostragens nas suas lavouras. Considerando a interpretação de acordo a recomendação mais recente (CQFS-RS/SC (2016), conforme resumida no ANEXO B, o cenário é intrigante e preocupante.

O cenário apresentado pelo Anexo B demonstra que os princípios preconizados pelas recomendações técnicas, que consideram a probabilidade de resposta das culturas no estabelecimento dos valores referenciais para a recomendação de adubação a partir dos teores dos nutrientes presentes no solo, não estão sendo entendidos e atendidos, uma vez que a interpretação dos teores observados demonstram que na grande maioria das propriedades os teores de P, K, estão nas faixas de disponibilidade “muito alto” e teores de Ca, Mg, S, Cu, Zn

e B estão enquadrados na faixa “Alto”. Portanto, esses solos não necessitam de aplicações sucessivas e frequentes, ao contrário do que foi relatado pelos produtores (Anexo A). Essas constatações, embora representem a realidade de somente 25 propriedades produtoras de hortaliças, merecem algumas reflexões com relação à sustentabilidade da produção de hortaliças, de uma forma geral. Essas constatações são intrigantes por essa realidade ser observada também em propriedades que realizam coletas de amostras de solos para análises em média a cada três anos e dois meses. Isso nos faz refletir: Quem está errando? São os produtores? É a assistência técnica?

O cenário é preocupante, pelo fato de que possivelmente os solos destas propriedades possam estar contribuindo para a contaminação/poluição dos recursos hídricos adjacentes, conforme já observado (FEPAM, 2013), os quais, quando ainda dentro da propriedade geralmente são mananciais usados na irrigação das hortaliças. São, portanto, fonte de re-introdução dos elementos nessas áreas e também sobre as plantas. Quando o curso dessas águas for para além dos limites da propriedade (córregos, riachos ou rios), também poderá introduzir estes elementos na cadeia trófica, via captação de água para consumo humano rural e urbano.

Os teores de Cu observados no solo das propriedades amostradas possivelmente estão sendo introduzidos principalmente de forma não intencional como elemento secundário de fertilizantes sólidos industrializados aplicados diretamente ao solo ou como formulações líquidas sobre as plantas (foliares), em moléculas de princípios ativos de agrotóxicos aplicados sobre as plantas, especialmente os fungicidas cúpricos (ex: i. a. oxiclreto de cobre, sulfato de cobre) e em resíduos orgânicos oriundos de animais (esterco suíno, bovino e frangos) ou resíduos agroindustriais. Portanto, a introdução não ocorre exclusivamente pelo emprego de fertilizantes químicos formulados e agrotóxicos. Uma constatação surpreendente foi observar teores com disponibilidade “Alta” de Cu, extraído por Mellich-1 também na propriedade com produção certificada como orgânica (propriedade 4R4, Anexo 1), na qual as principais fontes cúpricas são os compostos orgânicos, calda bordalesa e produtos à base de sulfato de cobre e oxiclreto de Cu (informações da proprietária), ambos autorizados para uso na agricultura orgânica (Instrução Normativa Nº 46/2011 e IN Nº 17/2014). Portanto, a partir dessa constatação, é possível afirmar que não são apenas fertilizantes inorgânicos e agrotóxicos os responsáveis pela introdução de metais pesados no solo, conforme também já observado por Sampaio et al. (2008), os quais encontraram altos teores de Pb e Ni na raiz tuberosa da beterraba cultivadas em solos que receberam matéria orgânica proveniente da compostagem. Gonçalves Jr. et al. (2015) também relataram que os teores mais elevados de

Cu foram observados em plantas (*Artemisia dracunculus* L.) cultivadas com fertilizante orgânico na dose recomendada, em comparação a adubos minerais. Diante disso, é necessário conhecer a composição/origem dos materiais orgânicos empregados também na produção orgânica de hortaliças.

O aumento nos teores de Cu em formas mais lábeis, observado nas quatro propriedades avaliadas no artigo 1, favorece a biodisponibilidade do metal, podendo ocasionar danos às plantas e microrganismos do solo, bem como aumentar o risco de contaminação ambiental. No entanto, possivelmente este cenário não se restrinja somente a essas quatro propriedades que apresentarem os maiores teores de Cu extraídos por Mehlich-1 (critério usado na definição das propriedades para estudo mais criterioso). Outras propriedades, a exemplo de 1R3, 4R4 e 5R2, por estarem em outras regiões geomorfológicas, regiões 3, 4 e 2, respectivamente, possivelmente apresentam diferenças originadas a partir dos diferentes materiais de origem (Ex: teor de argila), os quais podem afetar e determinar uma maior labilidade de Cu, conforme indicam os próprios VRQs constantes na portaria da N° 85/2014 da Fepam, para os quais são considerados os teores totais de 13, 11 e 9 mg de Cu kg⁻¹ de solo, respectivamente (FEPAM, 2014), muito inferiores ao estipulado para a região 1, que é de 203 mg Cu Kg⁻¹ de solo. Dessa forma, os teores totais poderiam ultrapassar os VRQs, o que incluiria mais propriedades no cenário apresentado e discutido no Estudo 1.

O solo do ambiente CP da propriedade 23R1 destacou-se por apresentar teor total de Cu considerado potencialmente contaminante, por ter superado o VRQ e constantes na Resolução 420 do CONAMA (2009) e na Portaria N° 85/2014 da FEPAM. Porém, vale ressaltar que esse teor foi atribuído a uma origem anterior ao cultivo de hortaliças ou seja, ao uso de calda bordalesa em videiras. Portanto, os teores observados merecem atenção e monitoramento assim como a adoção de medidas para redução ou estabilização do seu teor. A avaliação de hortaliças cultivadas nos ambientes e teores observados em 23R1, traria uma real dimensão dos efeitos sobre o crescimento das diferentes espécies de hortaliças expostas a tais concentrações e também possibilitariam a estimativa dos teores de Cu presentes nos tecidos. Porém, os teores totais de Cu observados no solo dessa propriedade assim como nos demais solos podem não ter relação com o Cu biodisponível e o absorvido pelas plantas, devido as diversas variáveis (pH, MOS; CTC, teor de argila, presença de óxidos de Fe e Al), inerentes ao solo que atuam e contribuem na regulação da biodisponibilização do Cu às plantas. A avaliação dos efeitos de cada variável sobre a biodisponibilidade de Cu é difícil, sendo impossível de isolar cada uma para determinar sua contribuição, pois a biodisponibilidade do elemento no solo é resultante de interações dinâmicas.

Diante disso, para a determinação dos possíveis efeitos das concentrações biodisponíveis de Cu sobre plantas, dispositivos experimentais que permitem um maior controle e isolamento de interferências foram usados nos cultivos de beterraba e repolho, conforme apresentado nos Estudos 2 e 3. No entanto, apesar de conhecer e quantificar os efeitos das concentrações de Cu disponíveis sobre o crescimento das plantas e sobre alguns parâmetros morfológicos, fisiológicos e bioquímicos, estes resultados são difíceis de aplicar num cenário de Cu no solo, por não haver interferências como as atuantes sobre a disponibilidade de Cu no solo. Mas, a atuação do Cu sobre o crescimento observado nos experimentos apresentados nos Estudos 2 e 3, permite fazer algumas observações; i) a cultura da beterraba é mais sensível a exposição de Cu por apresentar maiores efeitos negativos no crescimento, enquanto nas plantas de repolho foi observada redução apenas na massa fresca de cabeça, o que indica a presença de mecanismos de tolerância às elevadas concentrações de Cu nas plantas de repolho em relação às de beterraba; ii) é possível observar diferenças entre os efeitos das mesmas concentrações de Cu (0,52 e 1,02 mg Cu L⁻¹) sobre as plantas (Anexo C), especialmente na beterraba em função da época em que os experimentos foram conduzidos, podendo as diferenças ser atribuídas a alterações fisiológicas decorrentes das diferenças nas variáveis luminosidade, temperatura e umidade do ar avaliados sobre o dossel das duas culturas, podendo portanto, ocorrer também em cultivos no solo.

A partir dos teores de Cu na solução do solo (Cu-CaCl₂) observados nos ambientes CA e CP (Tabela 3, Estudo 1) é possível discutir um cenário que possa ocorrer no solo das propriedades analisadas. Variações na umidade do solo podem alterar a biodisponibilidade de Cu, isso devido a sua influência nas reações redox, que são maiores sob maior umidade no solo, resultando numa menor solubilidade do Cu e também por alterar o deslocamento do íon metálico, seja por fluxo de massa ou difusão. Diante disso, possivelmente as concentrações do elemento na solução do solo e junto a rizosfera poderão ser aumentadas em função da redução do potencial total de água do solo originado pela evapotranspiração das plantas em lavouras que não empregam a irrigação e também em função do turno de rega em propriedades com irrigação. Quando ocorre a absorção do Cu pelas raízes das plantas, a concentração na solução rizosférica do solo é diminuída e a concentração não rizosférica do elemento na solução do solo atuará para o restabelecer o equilíbrio entre essas concentrações. Porém, quando o teor de Cu na solução for elevado ou excessivo e ocorrerem reduções disponibilidade de água do solo, sua concentração na rizosfera poderá ser ainda mais aumentada. O Cu é pouco demandado pela maioria das culturas sob condições normais. No entanto, nas condições de elevada concentração rizosférica e de alta demanda evapotranspiratória (altas temperaturas e

baixa umidade do ar), a absorção e o transporte no interior da planta poderão ser aumentados pelo fluxo da água e atingir níveis tóxicos. Essa é uma das hipóteses para explicar as diferenças no crescimento de beterraba e repolho, mas principalmente na beterraba, verificadas nas mesmas concentrações de Cu na solução nutritiva (Anexo C) em distintas épocas das avaliações, conforme observado com relação a temperatura e umidade do ambiente de cultivo (Figura 1 - Estudo 2; Figura 1 - Estudo 3).

As plantas de beterraba e repolho, mesmo apresentando reduções em todos os parâmetros de crescimento, especialmente no experimento com as maiores concentrações de Cu (Estudo 3) não manifestaram alterações significativas nos parâmetros fisiológicos, fotossintéticos e relativos à atividade enzimática avaliada. Nos resultados apresentados nos estudos 2 e 3, apesar dos teores de Cu nas folhas das plantas de beterraba atingirem níveis considerados fitotóxicos, não foram observados efeitos expressivos sobre os parâmetros fisiológicos e bioquímicos. Contudo, nas plantas de repolho foram observadas alterações nas concentrações de clorofila *b*, H_2O_2 e níveis de TBARs (Estudo 2) e relação carotenoides/clorofila total e SOD (Estudo 3). Apesar das variáveis taxa fotossintética, condutância estomática, concentração interna de CO_2 , taxa transpiratória, eficiência do uso da água e eficiência instantânea de carboxilação pela rubisco não diferirem significativamente entre as concentrações de Cu na solução nutritiva testadas (Estudo 2) para a beterraba e repolho, estas foram avaliadas somente em uma data (06/05/2015, T_{min} 7,1°C; T_{max} 24,7°C; UR_{min} 39,6% e UR_{max} 94,5%) ao longo do cultivo. Portanto, podem não representar o observado visualmente nas plantas de beterraba nos momentos diurnos de temperatura mais elevada e baixa UR (Figura 1- Estudo 2) dos dias próximos à colheita. Nestes momentos, observaram-se reduções na turgidez das plantas expostas as maiores concentrações de Cu testadas. Isso permite sugerir que, possivelmente, tenha ocorrido uma interação negativa da planta exposta ao Cu e às variáveis meteorológicas do período experimental, caracterizado pela grande amplitude térmica diária, ocasionando o surgimento de alguma limitação na absorção e suprimento de algum(ns) nutriente(s), possivelmente induzido pelo acúmulo de Cu nas raízes e sua maior concentração junto a rizosfera. Essa interação poderia explicar a redução dos parâmetros morfológicos de crescimento, sem alterações significativas nos parâmetros fotossintéticos e na atividade enzimática.

As plantas expostas a elevadas concentrações de Cu junto ao sistema radicular podem empregar diversos mecanismos para evitar ou controlar o excesso desse elemento no seu interior. Isso pode ocorrer por meio da redução de sua absorção, síntese e liberação de ácidos orgânicos e exsudatos para complexação de excesso de Cu no entorno das raízes e a

imobilização de excesso de Cu nas raízes, compartimentalização de parte das quantidades absorvidas no vacúolo de forma a inativá-las temporariamente, formando quelatos de Cu com fitoquelatinas e metalotioneínas, (CLEMENS, 2006; YRUELA, 2009; MIRANSARI, 2011; MOURATO, 2015). A maior “imobilização” de Cu nas raízes é uma possível explicação para os maiores conteúdos de Cu observados nas raízes da beterraba e do repolho. No entanto, devido a alta afinidade do Cu aos sítios de troca e espaços livres das raízes, esse elemento pode deslocar outros nutrientes essenciais, como, por exemplo, o Fe de centros responsáveis por reações fisiológicas de grande relevância, induzindo a deficiências (CHATTERJEE; CHATTERJEE, 2000; MANTOVANI, 2009), o que possivelmente também possa ter ocorrido no presente trabalho (dados não apresentados).

Os maiores efeitos negativos do Cu sobre o crescimento das plantas de beterraba, comparados às plantas de repolho, sugerem a presença de mecanismos de tolerância às elevadas concentrações de Cu nas plantas de repolho em relação às de beterraba. No entanto, a presença de mecanismos restritivos à translocação do Cu em altas concentrações nos tecidos das raízes para os demais tecidos da parte aérea foram observadas em ambas as espécies. Na hipótese da existência desses mecanismos, os teores de Cu presentes nos diferentes tecidos da parte aérea de ambas as culturas e nas raízes tuberosas da beterraba aumentaram com as concentrações de Cu na solução nutritiva, atingindo níveis considerados fitotóxicos, aumentando também os riscos relacionados a utilização destas partes (órgãos) na alimentação humana. Portanto, possivelmente no solo, apesar de vários mecanismos que interferem na biodisponibilidade de Cu, essas espécies apresentem comportamento similar frente a elevados teores de Cu biodisponíveis, podendo, portanto absorver, translocar e acumular teores acima do necessário para suprir a demanda metabólica. Dessa forma aumentariam os riscos a ingestão excessiva desse metal pesado por humanos quando contabilizadas as diferentes quantidades ingeridas destas hortaliças, acrescidas das outras vias de exposição ao elemento, como a utilização de agrotóxicos cúpricos nas plantas ou ainda contato dérmico.

As diferenças observadas entre as duas hortaliças estudadas, chama a atenção das possíveis diferenças existentes no universo das espécies de hortaliças exploradas comercialmente no Brasil. Para a grande maioria destas culturas são escassos ou inexistentes os resultados relacionados ao potencial de absorção e acúmulo de Cu e demais metais pesados, especialmente em cultivos no solo e também em cultivos intensivos que empregam soluções nutritivas, aplicações rotineiras de fertilizantes foliares e agrotóxicos. Isso demonstra a necessidade de mais pesquisas sobre o tema, devido o consumo de hortaliças ser

considerado a via com maior potencial de introdução de metais pesadas na cadeia trófica humana.

A insegurança do consumidor quanto ao consumo de hortaliças contaminadas por agrotóxicos aumentou a pressão relacionada ao uso desses produtos, o que tem criado um cenário curioso, no qual se faz uso dos produtos foliares denominados de “carência zero” e, dentre eles, estão produtos formulados a base de Cu, Fe, Zn, etc., considerados metais pesados. Portanto, devido a busca do mercado consumidor por produtos livres de contaminantes, considerados erroneamente como sendo apenas os agrotóxicos, um novo nicho de exploração industrial se aprimorou e introduziu o termo “produtos carência zero” e desta forma, surgiu mais uma forma de exposição do consumidor a metais pesados, visto que as hortaliças podem ser consumidas apenas algumas horas após a aplicação destes produtos.

Em estudo realizado por Zavatti e Abakerli (1999) em tomateiro irrigado, no qual o uso dos agrotóxicos clorpirifós, captan, clorotalonil, endosulfan, λ -cialotrina e cobre foi monitorado e os resíduos presentes nos frutos colhidos foram quantificados, é possível observar que o cobre estava presente em teores que variaram de 0,95 a 3,75 mg kg⁻¹, consideravelmente superiores as demais ingredientes ativos, que em sua maioria não foram detectados. Nesse caso, a fonte de Cu foi o oxiclreto de Cu, o qual foi aplicado na fase da maturação e respeitando período de carência superior ao recomendado (1 dia). Portanto, devido a reduzida ou nula degradação do Cu, pode ser questionado o emprego dos produtos denominados de “carência zero”, os quais também necessitam monitoramento quanto a presença de Cu e demais metais pesados, que serão adicionados ao solo e ainda poderão estar presentes de forma direta nas hortaliças ofertadas ao consumidor. Também o uso de produtos cúpricos (oxiclreto de cobre e sulfato de cobre) em propriedades produtoras de hortaliças com certificação orgânica deve ser revisto, pois esses produtos são uma das principais alternativas químicas para o controle de patógenos nesse sistema de produção.

A avaliação do potencial de risco a saúde do consumidor das hortaliças oriundas dos resultados constantes nos estudos 2 e 3, demonstra que quando considerados os valores de referência e as condições experimentais, o consumo das raízes tuberosas da beterraba e dos tecidos das cabeças de repolho não representam riscos potenciais à saúde de seus consumidores. No entanto, entre os tecidos das duas hortaliças estudadas, a raiz tuberosa da beterraba apresentou maior acúmulo de Cu, enquanto o acúmulo de Cu na cabeça de repolho demonstrou não ser influenciado pela concentração de Cu na solução (Estudo 2), mas com incremento no acúmulo em concentrações maiores (Estudo 3). Desta forma, o consumo *in natura* de raízes tuberosas de beterraba e do tecido da cabeça de repolho pode oferecer risco

potencial à saúde de seus consumidores, dependendo da concentração rizosférica de Cu à qual as plantas estão expostas. Além disso, conforme observado, variações entre as espécies e até mesmo entre cultivares podem ocorrer. Pesquisas mais detalhadas são necessárias para a definição dos níveis seguros de ingestão humana de Cu a partir desses alimentos.

4 CONCLUSÕES

Os teores de Cu no solo em áreas cultivadas com hortaliças em diferentes regiões produtoras do estado do Rio Grande do Sul estão sendo incrementados em decorrência do manejo do solo e dos tratos culturais, tanto em áreas de CA, como de CP. Os teores de Cu presentes nos diferentes tecidos da parte aérea de beterraba e repolho e nas raízes tuberosas da beterraba aumentam com o aumento da concentração de Cu na solução nutritiva, com efeito negativo no crescimento das plantas de beterraba e na massa fresca de cabeça. O consumo de beterraba e de repolho pode oferecer risco potencial à saúde de seus consumidores, dependendo da concentração de Cu nos tecidos e da quantidade ingerida. Sugere-se adotar critérios de adubação e manejo das lavouras capazes de controlar as quantidades de Cu fornecidas ao sistema solo-água-planta tanto no cultivo convencional no solo, protegido e orgânico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, C. A. de; LOPES, A. S.; SANTOS, G. Micronutrientes. In: NOVAIS, R. F. et al. **Fertilidade do solo**. Viçosa-MG, Sociedade Brasileira de ciência do solo, 2007.

ALI, S. et al. Impact of copper toxicity on stone-head cabbage (*Brassica oleracea* var. capitata) in hydroponics. **PeerJ**, v. 3, 2015. DOI: e1119.<http://doi.org/10.7717/peerj.1119>.

ALTHAUS D, GIANELLO C, TEDESCO MJ, SILVA KJ, BISSANI CA, FELISBERTO R. Natural fertility and metals contents in soils of Rio Grande do Sul (Brazil). **Rev Bras Cienc Solo**. 2018;42:e0160418. <https://doi.org/10.1590/18069657rbc20160418>.

ANDRIOLO, J. L. **Olericultura geral**. 3. ed. Santa Maria, RS: Ed. da UFSM, 2017. 96 p.

Anuário brasileiro de hortaliças 2017 / Cleonice de Carvalho ... [et al.]. – Santa Cruz do Sul : Editora Gazeta Santa Cruz, 2016. 56 p.

ARENA, K. T., HARTMANN, L. A.; BAGGIO, S.B. Geological controls of copper gold and silver in the Serra Geral Group, Realeza region, Paraná, Brazil. **Ore Geology Reviews**, 63: 178-200, 2014.

BAYER, M. et al. Stocks and humification degree of organic matter fractions as affected by no-tillage on a subtropical soil. **Plant and Soil**, v. 238, p. 133-140, 2002.

BORTOLUZZI, E. C. et al. The cation exchange capacity of a sandy soil in southern Brazil: An estimation of permanent charge and pH-dependent charges. **Eur. J. Soil Sci.**, v. 57, p. 356-364, 2006.

BRADL, H. B. Adsorption of heavy metal ions on soils and soils constituents. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 277, p. 1–18, 2004. DOI:10.1016/j.jcis.2004.04.005.

BRAVIN, M. N. et al. Root-induced changes in pH and dissolved organic matter binding capacity affect copper dynamic speciation in the rhizosphere. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 84, p. 256-268, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.gca.2012.01.031>.

BRASIL. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Instrução Normativa nº 46 de 06 de outubro de 2011. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/sustentabilidade/organicos/legislacao/portugues/instrucao-normativa-no-46-de-06-de-outubro-de-2011-producao-vegetal-e-animal-regulada-pela-in-17-2014.pdf/view>. Acesso em: 02 de mai. de 2018.

BRASIL. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Instrução Normativa nº 17 de 18 de junho de 2014. Disponível em <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/sustentabilidade/organicos/legislacao/portugues/instrucao-normativa-no-17-de-18-de-junho-de-2014.pdf/view>. Acesso em 02 de mai. de 2018.

BRUNNER, I. et al. Heavy metal accumulation and phytostabilisation potential of tree fine roots in a contaminated soil. **Environmental Pollution**, v. 152, n. 3, p. 559-568, 2008. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2007.07.006>.

BRUNETTO, G. et al. Frações de cobre e zinco em solos de vinhedos no Meio Oeste de Santa Catarina. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 18, n. 8, p. 805-810, 2014. DOI: <https://dx.doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v18n08p805-810>.

BRUNETTO, G. et al. Copper accumulation in vineyard soils: Rhizosphere processes and agronomic practices to limit its toxicity. **Chemosphere**, v. 132, p. 293-307, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.07.104>.

BRUNETTO, G. et al. Copper and zinc fractions in the profile of an Inceptisol cultivated with apple in southern Brazil. **Bragantia**, v. 1, p. 1-15, 2018.

CAMARGO, O. A.; ALLEONI, L. R. F.; CASAGRANDE, J. C. Reações dos micronutrientes e elementos tóxicos no solo. In: FERREIRA, M.E., ed. **Micronutrientes e elementos tóxicos na agricultura**. Jaboticabal, CNPQ; FAPESP; POTAFOS, 2001. 599 p.

CANELLA, D. S. et al. Consumption of vegetables and their relation with ultra-processed foods in Brazil. **Revista de Saúde Pública**, v. 52, n. 50. Epub May 21, 2018. DOI: <https://dx.doi.org/10.11606/s1518-8787.2018052000111>.

CASALI, C. A. et al. Formas e dessorção de cobre em solos cultivados com videira na Serra Gaúcha do Rio Grande do Sul. **Bras. Ciênc. Solo**, v. 32, p. 1479–87, 2008. DOI:10.1590/S0100-06832008000400012.

CHATTERJEE, J.; CHATTERJEE, C. Phytotoxicity of cobalt, chromium and copper in cauliflower. **Environ Pollut**, v. 109, p. 69–74, 2000.

CLEMENS, S. Toxic metal accumulation, responses to exposure and mechanisms of tolerance in plants. **Biochemie**, v. 88, p. 1707-1719, 2006.

COMIN, J. J. et al. Liming as a means of reducing copper toxicity in black oats. **Ciência Rural**, v. 48, n. 4, 2018. DOI: <https://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20170278>.

CORREA, C.V.; CARDOSO, A.I.I.; CLAUDIO, M.D.T.R. Produção de repolho em função de doses e fontes de potássio em cobertura. *Semina: Ciências Agrárias*, v.34, p.2129- 2138, 2013.

CNA- Hortaliças. Balanço 2016/Perspectivas 2017
http://www.cnabrazil.org.br/sites/default/files/sites/default/files/uploads/11_hortalicas.pdf

CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente. 2009. Resolução 420, de 28 /12/2009 Dispõe sobre critérios e valores orientadores de qualidade do solo quanto à presença de substâncias químicas e estabelece diretrizes para o gerenciamento ambiental de áreas contaminadas por essas substâncias em decorrência de atividades antrópicas. Brasília-DF, Brazil: **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, 249.

CORGUINHA, A. P. B. **Elementos-traço em partes comestíveis de produtos agrícolas**. 2011. 94p. Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Área de Concentração em Recursos Ambientais e Uso da Terra. Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, 2011.

COSTA, C. N.; MEURER, E. J.; BISSANI, C. A.; SELBACH, P. A. **Contaminantes e poluentes do solo e do ambiente**. In: **Fundamentos de química do solo**. 3ed. Porto Alegre: Evangraf, p. 213-250, 2006.

COSTA, W. P. L. B. **Alterações na fertilidade do solo e teores de metais pesados em solos cultivados com videira**. 2009. 80f. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE, 2009.

COUTO, R. R. et al. Accumulation and distribution of copper and zinc in soils following the application of pig slurry for three to thirty years in a microwatershed of southern Brazil. **Archives of Agronomy and Soil Science**, v. 62, p. 593-616, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1080/03650340.2015.1074183>.

CQFSRS/SC – Comissão de Química e Fertilidade do Solo - RS/SC. **Manual de adubação e calagem para os Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina**. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. 2004. 400p.

CQFS-RS/SC – Comissão de Química e Fertilidade do Solo – RS/SC. **Manual de calagem e adubação para os Estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina**. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. 2016. 376p.

DE CONTI, L. et al. Soil solution concentrations and chemical species of copper and zinc in a soil with a history of pig slurry application and plant cultivation. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 216, p. 374–386, 2016.

DECHASSA N, SCHENK MK. Exudation of organic anions by roots of cabbage, carrot, and potato as influenced by environmental factors and plant age. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 167, p. 623–629, 2004.

DECHEN, A. R.; NATCHIGALL, G. R. Elementos requeridos à nutrição da plantas. In: NOVAIS, R. F. et al. **Fertilidade do solo**. Viçosa-MG, Sociedade Brasileira de ciência do solo, 2007.

DIETRICH, A. M., GALLAGHER, D. L., KLAWITER, K. A. Inputs of copper-based crop protectants to coastal creeks from pasticulture runoff. **Journal of the American Water Resources Association**, v. 37, 2001.

FERNÁNDEZ-CALVIÑO, D. et al. Copper fractionation and release from soils devoted to different crops. **Journal of Hazardous Materials**, v. 167, p. 797- 802, 2009.

FILGUEIRA, F. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. 3a edição. Viçosa: UFV, 2012, 418p.

FUNDAÇÃO ESTADUAL DE PROTEÇÃO AMBIENTAL HENRIQUE LUIZ ROESSLER/RS – FEPAM. **Qualidade das águas da Bacia Hidrográfica do Caí**. Acesso em 03 mar. 2018. http://www.fepam.rs.gov.br/qualidade/qualidade_cai/cai.asp

FUNDAÇÃO ESTADUAL DE PROTEÇÃO AMBIENTAL HENRIQUE LUIZ ROESSLER/RS - FEPAM. Portaria Fepam nº 85/2014. **Dispõe sobre o estabelecimento de Valores de Referência de Qualidade (VRQ) dos solos para 09 (nove) elementos químicos**

naturalmente presentes nas diferentes províncias geomorfológicas/geológicas do Estado do Rio Grande do Sul. Porto Alegre; 2014. Acesso em 29 mai. 2015. Disponível em: <http://www.fepam.rs.gov.br/legislacao/arq/Portaria085-2014.pdf>.

FRANÇA, L. R. et al. Simulação do uso da cama de frango na própria propriedade. Rio Verde - GO. **Archivos de zootecnia**, v. 58, n. 221, p. 138, 2009.

FUKAYAMA, E. H. **Características quantitativas e qualitativas da cama de frango sob diferentes reutilizações: efeitos na produção de biogás e biofertilizante.** 2008. 99f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Unesp, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal/SP., 2008.

GIROTTO, E. et al. Acúmulo e formas de cobre e zinco no solo após aplicações sucessivas de dejetos líquidos de suínos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 34, n. 3, p. 955-965, 2010. DOI: <https://dx.doi.org/10.1590/S0100-06832010000300037>

GIROTTO, E. et al. Triggered antioxidant defense mechanism in maize grown in soil with accumulation of Cu and Zn due to intensive application of pig slurry. **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, v. 93, p. 145–155, 2013.

GONÇALVES, A. C. Jr. et al. Levels of nutrients and heavy metals in tarragon plants under different fertilizers. **Rev Ciênc Agron.**, v. 46, p. 233–240, 2015.

GUO, G.; ZHOU, Q.; Q. MA, L. Q. Availability and assessment of fixing additives for the in situ remediation of heavy metal contaminated soils: a review. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 116, p. 513–528, 2006, DOI: 10.1007/s10661-006-7668-4.

HALL, J.L. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance, **J. Exp. Bot.** v. 53, p. 1–11, 2002.

HINSINGER, P.; COURCHESNE, F. Biogeochemistry of Metals and Metalloids at the Soil–Root Interface. In: **Biophysico-Chemical Processes of Heavy Metals and Metalloids in Soil Environments** (eds A. Violante, P. M. Huang and G. M. Gadd), John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA. 2007.

HU, W. et al. Heavy metals in intensive greenhouse vegetable production systems along Yellow Sea of China: levels, transfer and health risk. **Chemosphere**, v. 167, p. 82–90, 2017.

IBGE – **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística.** Pesquisa de orçamentos familiares, 2008–2009: análise do consumo alimentar pessoal no Brasil. Rio de Janeiro 2011; 1–150.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Censo agropecuário 2017: resultados preliminares. Rio de Janeiro, 2018. Disponível em <https://censos.ibge.gov.br/agro/2017/>. Acesso em 29 set. 2018.

JORIS, H. A. W. et al. Adsorção de metais pesados após calagem superficial em um Latossolo Vermelho sob sistema de plantio direto. **Revista Ciência Agronômica**, v. 43, n. 1, p. 1-10, 2012.

KABATA-PENDIAS, A., PENDIAS, H. **Trace Elements in Soils and Plants**. 4rd Edition, CRC Press, Boca Raton, 2010.

KHAN, M. J.; JONES, D. L. Chemical and organic immobilization treatments for reducing phytoavailability of heavy metals in copper-mine tailings. **J. Plant Nutr. Soil Sci.**, v. 171, p. 908–916, 2008.

KIRKBY, E. A.; RÖMHELD, V. Micronutrientes na fisiologia de plantas: Funções absorção e mobilidade. **Inf. Agron.**, v. 118, p. 1-24, 2007.

KOPSELL, D.E.; KOPSELL, D. A. Copper. In: Barker AV, Pilbeam. DJ (eds). **Handbook of plant nutrition**. Boca Raton, Taylor and Francis Group, p. 293–328, 2007.

LANA, M. M.; TAVARES, S. A., editores técnicos. **50 hortaliças: como comprar, conservar e consumir**. Brasília, DF: Embrapa Hortaliças, 2010.

LOPEZ-MILLAN, A. F. et al. Effects of iron deficiency on the composition of the leaf apoplastic fluid and xylem sap in sugar beet. Implications for iron and carbon transport. **Plant Physiol.**, v. 124, p. 873–884, 2000.

MACHADO, C. M. M. **Processamento de hortaliças em pequena escala**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2008.

MANTOVANI, A. **Composição química de solos contaminados por cobre: formas, sorção e efeito no desenvolvimento de espécies vegetais**. Tese. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS. 2009. 165 p.

MARSCHNER, P. **Mineral nutrition of higher plants**. 3. ed. Elsevier, 2012. 652 p.

MARTORELL, I. et al. Human exposure to arsenic, cadmium, mercury, and lead from foods in Catalonia, Spain: Temporal trend. **Biological Trace Element Research**, v. 142, p. 309-322, 2011.

MATEOS-NARANJO, E. et al. Assessing the effect of copper on growth, copper accumulation and physiological responses of grazing species *Atriplex halimus*: Ecotoxicological implications. **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, v. 90, p. 136–142, 2013.

McBRIDE, M. B. **Environmental Chemistry of Soils**, Oxford University Press, New York, 1994. 7. R.G.

MENGEL, K.; KIRKBY, E. **Principles of plant nutrition**. 5.ed. Dordrecht/Boston/London: Kluwer Academic Publishers, 2001. 849p.

MEURER, E. J. et al. **Fundamentos de química do solo**. 3. ed. Porto Alegre: Evangraf, 2006. p. 73-99.

MIOTTO, A. et al. Copper uptake, accumulation and physiological changes in adult grapevines in response to excess copper in soil. **Plant Soil**, v. 374, p. 593–610, 2014.

MIRANSARI M. Hyperaccumulators, arbuscular mycorrhizal fungi and stress of heavy metals. **Biotechnol Adv.**, v. 29, p. 645–53, 2011.

MONTEZANO, E. M.; PEIL, R. M. N. Sistema de consórcio na produção de hortaliças. *Revista Brasileira de Agrociência*, v. 12, p. 129-132, 2006.

MORALES, J. M. L.; RODRÍGUEZ-MONROY, M.; SEPÚLVEDA-JIMÉNEZ, G. Betacyanin accumulation and guaiacol peroxidase activity in *Beta vulgaris* L. leaves following copper stress. **Acta Soc. Bot. Pol.**, v. 81, p. 193–201, 2012.

MOREIRA, M. A.; VIDIGAL, S. M; SEDIYAMA, M. A. N.; SANTOS, M. R. Crescimento e produção de repolho em função de doses de nitrogênio. *Horticultura Brasileira*, v. 29, n. 1, jan./mar. 2011.

MOURATO, M. P. et al. Effect of heavy metals in plants of the genus brassica Int. **J. Mol. Sci.**, v. 16, n. 8, p. 17975-17998, 2015.

NASER, H. M. et al. Heavy metal levels in vegetables with growth stage and plant species variations. **Bangladesh J. Agric. Res.**, v. 36, p. 563–574, 2011.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS (ONU). **Perspectivas da População Mundial: Revisão de 2017.** 2017. Disponível em https://esa.un.org/unpd/wpp/Publications/Files/WPP2017_KeyFindings.pdf. Acesso em 02 jun. 2018.

PÉREZ-ESTEBAN, J. Soluble organic carbon and pH of organic amendments affect metal mobility and chemical speciation in mine soils. **Chemosphere**, v. 103, p. 164-171, 2014. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2013.11.055.

PRINTZ, B. et al Copper Trafficking in Plants and Its Implication on Cell Wall Dynamics. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, n. 601, 2016. DOI: <http://doi.org/10.3389/fpls.2016.00601>

REHMAN, Z. U. et al. Transfer of Heavy Metals from Soils to Vegetables and Associated Human Health Risk in Selected Sites in Pakistan, **Pedosphere**, 2017, DOI: 10.1016/S1002-0160(17)60440-5.

RODRIGUEZ-RUBIO, P. et al. Retention of copper by calcareous soil and its textural fractions influence of amendment with two agroindustrial residues. **European Journal of Soil Science**, v. 54, p. 401-409, 2003.

SAMPAIO et al. Produção e concentração de metais pesados em plantas de beterraba adubadas com composto de lixo urbano. **Caatinga**, v. 21, p. 83-88, 2008.

SEBRAE NACIONAL. 2015. O mercado de hortaliças no Brasil. **Notícias públicas.** Disponível em: <https://www.sebrae.com.br/sites/PortalSebrae/artigos/o-mercado-dehortalicas-no-brasil,92e8634e2ca62410VgnVCM100000b272010aRCRD> Acesso em: 09 mai. de 2018.

SHAHEEN, S. M.; TSADILAS, C. D.; RINKLEBE, J. A. review of the distribution coefficient of trace elements in soils: Influence of sorption system, element characteristics, and soil colloidal properties. **Adv. Colloid Interface Sci.**, v. 201–202, p. 43–56, 2013.

SILVA, D. S. O.; COSTA, C. C. Caracterização dos vendedores de hortaliças da Feira de Pombal-PB. **Revista Verde**, v. 5, p. 191-196, 2010. Disponível em: <<http://www.gvaa.com.br/revista/index.php/RVADS/article/view/574/521>> Acesso em: 5 de Dezembro de 2016.

SILVA, L. S. et al. Heavy metal contents in Latosols cultivated with vegetable crops. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 46, p. 391–400, 2016

SHIYAB, S. Phytoaccumulation of Copper from Irrigation Water and Its Effect on the Internal Structure of Lettuce. **Agriculture**, v. 8, n. 29, 2018. DOI:10.3390/agriculture8020029.

SILVEIRA, M. L. A.; ALLEONI, L. R. F. Copper adsorption in tropical soils. Braz. **Arch. Bio. Tech.**, v. 46, p. 529-536, 2003.

SLAVIN, J. L.; LLOYD, B. Health Benefits of Fruits and Vegetables. **Advances in Nutrition**, v. 3, n. 4, p. 506–516, 2012. DOI: <http://doi.org/10.3945/an.112.002154>

SOUZA, C. P. C. **Disponibilidade de cobre e zinco em fertilizantes minerais e materiais secundários**. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical IAC-Campinas, 2011. 181fls.

SPARKS, D.L. **Metal and oxyanion sorption on naturally occurring oxide and clay mineral surfaces**. In: Grassian V (ed) Environmental Catalysts, Taylor and Francis Books Inc, Boca Raton, FL., 2005.

SPOSITO, G. The chemistry of soils. New York, Oxford, 2008, 330p.

TELLES, C. C. **Viabilidade técnica e econômica do cultivo de alface em consórcio com hortaliças tradicionais**. 2016. 94 p.: il. Dissertação de Mestrado (M) – Universidade de Brasília/Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2016.

TESSIER et al. Sequential Extraction Procedure for the Speciation of Particulate Trace Metals. **Analytical Chemistry**, v. 51, n. 7, jun/1979.

TIECHER, T. L. et al. The interaction of high copper and zinc doses in acid soil changes the physiological state and development of the root system in young grapevines (*Vitis vinifera*), **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 148, p. 985-994, 2018.

VIANA, E. et al. Resíduos alimentares do lixo domiciliar: estudo do uso na alimentação de frangos de corte. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.10, n.1, p. 203-211. 2006.

VIEIRA, L. P. **Acumulação de Nutrientes e Metais Pesados em Solo, Água e Hortaliças em Áreas Cultivadas com Olerícolas no Agreste de Pernambuco**. 2011. 109f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo), Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2011.

YANG, L. et al. The impact of greenhouse vegetable farming duration and soil types on phytoavailability of heavy metals and their health risk in eastern China. **Chemosphere**. v. 103, p. 121-130, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.11.047>

YRUELA, I. Copper in plants: acquisition, transport and interactions. **Functional Plant Biology**, v. 36, n. 5, p. 409, 2009.

WHANG, J. et al. Effect of cultivation ages on Cu accumulation in Greenhouse Soils in North China 2017 IOP Conf. Ser.: **Earth Environ. Sci.** v. 94, n. 012071, 2017.

WHO (World Health Organization). Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. (**WHO Technical Report Series 916**). Acesso em 02 mai. 2018. Disponível em [http://www.who.int/nutrition/publications/obesity/WHO TRS 916/en/](http://www.who.int/nutrition/publications/obesity/WHO_TRS_916/en/)

WUANA, R. A.; OKIEIMEN, F. E., Heavy Metals in Contaminated Soils: A Review of Sources, Chemistry, Risks and Best Available Strategies for Remediation. **ISRN Ecology**, v. 2011, Article ID 402647, 20 p, 2011. DOI: <https://doi.org/10.5402/2011/402647>.

ZAVATTI, L. M.; ABAKERLI, R. B. Resíduos de agrotóxicos em frutos de tomate. Pesquisa **Agropecuária Brasileira**, vol. 34, no. 3, pp. 473– 480, 1999.

ZHANG, H. Z. et al. Accumulation characteristics of copper and cadmium in greenhouse vegetable soils In Tongzhou District of Beijing. **Procedia Environ Sci.**, v. 10, p.289–294, 2011.

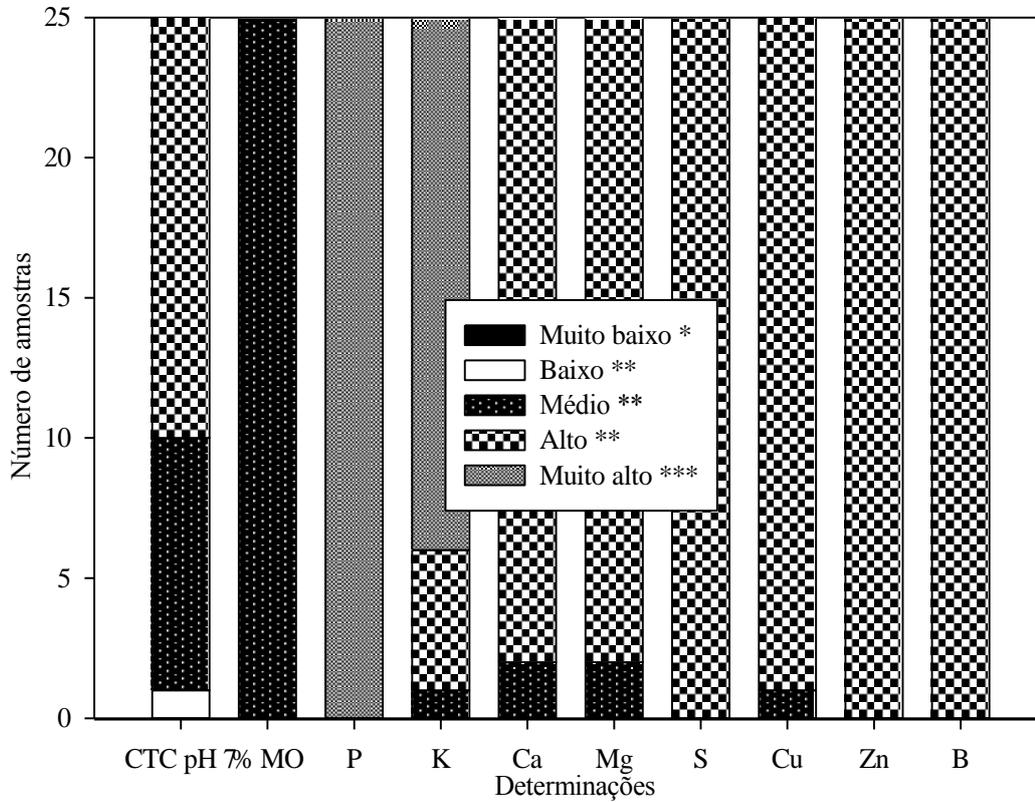
ANEXOS

ANEXO A - ASPECTOS GERAIS DAS 25 PROPRIEDADES AMOSTRADAS.

Área cultivada (nº de propriedades)	Até 2 ha	Entre 2 e 4 ha	Acima de 4 ha
Culturas mais frequentes em cultivo protegido	Alface, pepino, morango, pimentão, tomate, beringela		
Culturas mais frequentes em campo aberto	Alface, rúcula, cenoura, repolho, rabanete, beterraba, brócolis, couve flor, salsa, cebolinha, couve folha		
Histórico de cultivo (nº de propriedades)	Até 10 anos	Entre 10 e 20 anos	Acima de 20 anos
Realiza análise de solo?	Não	Sim	Frequência
(nº de propriedades)	15	10	3,2 anos
Aplicam muito adubo (químico/orgânico)?	Não	Sim	¹ Todos fazem uso de mistura de adubos
	5	20	
Usam fertilizantes foliares?	Não	Sim	Semanalmente
(nº de propriedades)	3	22	
Utiliza fertirrigação?	Não	Sim	Semanalmente
(nº de propriedades)	8	17	
Utiliza agrotóxicos?	Não	Sim	Semanalmente
(nº de propriedades)	1 ²	24	
	Inseticidas	Fungicidas	Herbicidas
Agrotóxicos mais aplicados	Ampligo, Karate, Decis, Abamex,	Ridomil, Amistar Top, Cabrio Top, Rovral, Cuprozeb, Score, Sumilex, Cercobin, Manzate; Folicur 200 EC; Fungitol Verde ; Recop	Glifosato

¹Mistura de adubos químicos e orgânicos (esterços e compostos agroindustriais); ²Propriedade com Certificação orgânica por auditoria.

ANEXO B - Número de amostras coletadas no ambiente cultivo protegido (C.P) e o enquadramento nas classes específicas de cada variável de acordo com a CBCS-NRS, 2016.



*classe existente somente para P e K. **existentes para todas as variáveis. ***existente somente para as variáveis CTCpH7, P e K.

ANEXO C – RESULTADOS OBTIDOS A PARTIR DAS EQUAÇÕES AJUSTADAS PARA AS DUAS CONCENTRAÇÕES QUE FORAM REPETIDAS NOS EXPERIMENTOS APRESENTADOS NOS ARTIGOS 2 E 3 (0,52 e 1,02 mg L⁻¹).

Concentrações de Cu (mg L ⁻¹)	Artigo 2		Artigo 3	
	0,52	1,02	0,52	1,02
Beterraba				
<i>Parâmetros de crescimento</i>				
MFPA	200,82	129,00	605,27	559,14
MFRT	243,86	152,88	387,52	360,15
MSFolhas	10,97	6,79	12,01	11,20
MSPecíolos	6,09	4,38	7,20	6,50
MSPA	17,11	11,21	19,15	17,59
MSRT	19,67	13,18	30,14	28,98
MSRaízes	1,58	0,76	1,53	1,38
<i>Teor de Cu</i>				
Folhas	51,21	62,86	29,90	55,29
Pecíolos	23,41	27,62	17,39	27,38
Raízes tuberosas	40,89	50,84	31,73	50,00
Raízes	539,35	645,67	560,18	1189,44
<i>Cu acumulado</i>				
Folhas	0,48 ns		0,36	0,48
Pecíolos	0,13 ns		0,12 ns	
Raízes tuberosas	0,71	0,71	0,95	1,26
Raízes	0,78	0,57	0,64	1,01
Total	2,22	1,86	2,06	2,89
Repolho				
<i>Parâmetros de crescimento</i>				
MFPA	2405,81 ns		2495,26	2385,55
MFCA	1214,23	1042,39	1039,46	936,19
MSPA	166,14 ns		190,95	183,65
MSFolhas	89,09 ns		111,14	105,68
MSCA	57,01 ns		62,43	60,54
MSCaule	20,03 ns		11,3 ns	
MSRaízes	11,76 ns		17,04 ns	
<i>Teores de Cu</i>				
Folhas	24,10	32,71	22,48	36,25
Cabeça	23,17	25,22	25,94	32,40
Caule	21,93	24,37	36,88	62,11
Raízes	624,64	793,12	266,69	669,81
<i>Cu acumulado</i>				
Folhas	2,18	2,77	2,47	3,11
Cabeça	1,41	1,31	1,75 ns	
Caule	0,46	0,44	0,65	0,95

				(continua)
Raízes	7,30	7,72	3,06	5,49
Total	11,34	12,24	7,80	11,28

ns tratamentos sem diferença significativa, valor médio foi apresentado.